

Zur mikrobiologischen
Beschaffenheit von Schnittkäse:
Erhebungen sowie Verlaufsuntersuchungen
in Abhängigkeit von chemischen
Parametern

Michael Viktor

*Leiss
München*

Aus der Veterinär-Untersuchungsstelle
der Bundeswehr im Wehrbereich VI in München
Leiter: Oberfeldveterinär Dr. Ahrens

vorgelegt über das
Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
(Lehrstuhl: Prof. Dr. G. Terplan)
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Zur mikrobiologischen Beschaffenheit von Schnittkäse:
Erhebungen sowie Verlaufsuntersuchungen in Abhängigkeit
von chemischen Parametern

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Michael V i k t o r
aus
Trostberg

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. G. Terplan

Korreferent: Prof. Dr. B. Gedek

Tag der Promotion: 27. Juli 1984

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

In Dankbarkeit meinen Eltern
und meiner Familie gewidmet.

1.	Einleitung	1
2.	Schrifttum	2
2.1	Schnittkäse - Definition und Herstellung	2
2.2	Käse als Biotop für Mikroorganismen	5
2.2.1	Einfluß der Erhitzung auf die Mikroflora der Rohmilch	5
2.2.2	Möglichkeiten der Rekontamination bei der Käseherstellung	6
2.2.3	Chemisch-physikalische Veränderungen im Verlauf der Produktion und der Reifung bzw. Lagerung und ihre Einflüsse auf die Bakterienflora im Käse	8
2.2.3.1	Vom Starter induzierte chemisch-physikalische Veränderungen und dessen Wirkung auf andere Mikroorganismen	8
2.2.3.2	Vom Starter unabhängige chemisch-physikalische Veränderungen und ihre Wirkung auf Mikroorganismen	12
2.2.3.3	Subletale Schädigung der Mikroorganismen	15
2.3	Ursprung, Vorkommen, Entwicklung und Bedeutung verschiedener Mikroorganismen im Käse	16
2.3.1	Gesamtkeimzahl	16
2.3.2	Cytochromoxidase-positive Keime	18
2.3.3	Enterokokken	21
2.3.4	Bacillus cereus	27
2.3.5	Koagulase-positive Staphylokokken	29
2.3.6	Anaerobe Sporenbildner	34
2.3.7	Enterobacteriaceae und coliforme Keime	36
3.	Eigene Untersuchungen	44
3.1	Material	44
3.2	Methodik	45
3.2.1	Entnahme und Vorbereitung der Proben für die bakteriologische Untersuchung	45

	Seite
3.2.2 Bestimmung der Gesamtkeimzahl	45
3.2.3 Bestimmung des Anteils Cytochromoxidase-positiver Keime an der Gesamtkeimzahl	46
3.2.4 Zählung der Streptokokken der serologischen Gruppe D	46
3.2.5 Zählung von <i>Bacillus cereus</i>	46
3.2.6 Zählung Koagulase-positiver Staphylokokken	47
3.2.7 Zählung der anaeroben Sporenbildner	47
3.2.8 Zählung der Enterobacteriaceae	47
3.2.9 Zählung der coliformen Keime bei 44 °C	48
3.2.10 Entnahme der Proben für die chemische Untersuchung	48
3.2.11 Messung des pH-Wertes	49
3.2.12 Bestimmung der Trockenmasse	49
3.2.13 Bestimmung des Fettgehaltes in der Trockenmasse	49
3.2.14 Bestimmung des Kochsalzgehaltes	49
3.3 Ergebnisse	50
3.3.1 Erhebungen zur bakteriologischen und chemischen Beschaffenheit von Schnittkäse der Sorten Gouda und Steppenkäse	50
3.3.1.1 Gesamtkeimzahl	50
3.3.1.2 Cytochromoxidase-positive Keime	50
3.3.1.3 Streptokokken der serologischen Gruppe D	52
3.3.1.4 <i>Bacillus cereus</i>	56
3.3.1.5 Koagulase-positive Staphylokokken	56
3.3.1.6 Anaerobe Sporenbildner	57
3.3.1.7 Enterobacteriaceae	59
3.3.1.8 Coliforme Keime (44 °C)	59
3.3.1.9 pH-Wert	64

3.3.1.10	Trockenmasse	65
3.3.1.11	Fettgehalt in der Trockenmasse	66
3.3.1.12	Kochsalzgehalt	67
3.3.2	Untersuchungen zur Veränderung der bakteriologischen und chemischen Beschaffenheit von Steppenkäse im Verlauf von Produktion bzw. Reifung und Lagerung	68
4.	Besprechung der Ergebnisse und Diskussion	76
5.	Zusammenfassung/Summary	95
6.	Literaturverzeichnis	101

1. Einleitung

Käse ist ein vom Verbraucher in zunehmendem Maße geschätztes Lebensmittel. In der Bundesrepublik Deutschland wurde 1981 ein pro-Kopf-Verbrauch von 6 kg ermittelt, woran Schnittkäsesorten einen Anteil von 50 % haben. Für die Milchindustrie stellt die Käseproduktion aufgrund der steigenden Nachfrage einen wichtigen und auch exportintensiven Produktionszweig dar (DILGER, 1981).

Wenn auch Milch und Milchprodukte zu den sichersten Lebensmitteln tierischen Ursprungs zählen (OLSON, 1980; TOLLE, 1979), so haben vereinzelte "Lebensmittelvergiftungen" nach Genuß von Käse bei diesem Produkt häufige Untersuchungen induziert. Da die mikrobiologischen Parameter nicht ohne weiteres interpretiert werden konnten, hat sich vielfach die Forderung nach Aufstellung von mikrobiologischen Grenzwerten bis hin zu Standards ergeben. Diskussionsvorschläge wurden oft bereits als Standards eingesetzt, was nicht unwidersprochen blieb. So ergab sich für Untersuchungsstellen und Produktionsbetriebe eine z. T. erhebliche Verunsicherung hinsichtlich der bakteriologischen Beurteilung von Käse.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, aufgrund von Erhebungen die bakteriologische Beschaffenheit handelsreifer Gouda und Steppenkäse zu ermitteln und ferner in Verlaufsuntersuchungen an Steppenkäse während Herstellung und Reifung bzw. Lagerung die Dynamik von Keimgruppen zu beobachten. Gleichzeitig sollten chemische Parameter erfaßt und deren eventueller Einfluß auf die Keimflora geprüft werden.

2. Schrifttum

2.1 Schnittkäse - Definition und Herstellung

Entsprechend § 6 (1) der Käseverordnung vom 19. Februar 1976 werden die Käse, ausgenommen Molkenkäse, nach dem Wassergehalt in der fettfreien Käsemasse in Käsegruppen eingeteilt. Für die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Schnittkäse wird ein Wassergehalt in der fettfreien Käsemasse von mehr als 54 % bis 63 % gefordert. Als Untergruppen (MAIR-WALDBURG, 1974) sind Schnittkäse ohne Schmiere (Standardsorten laut Käse-VO Gouda und Edamer) und solche mit Schmiere (Standardsorten laut Käse-VO Tilsiter) zu unterscheiden. Gouda und Edamer werden in den Fettgehaltsstufen Dreiviertelfettstufe, Fettstufe, Vollfettstufe und Rahmstufe, Tilsiter noch zusätzlich als Doppelrahmstufe in den Verkehr gebracht. Das Mindestalter beträgt für alle Standardsorten 5 Wochen (Käse-VO vom 19.02.1976).

Der in den eigenen Untersuchungen neben Gouda berücksichtigte Steppenkäse wird in der Käse-VO nicht als Standardsorte geführt, sondern gilt als sog. freie Sorte und wird im "Handbuch der Käse" (MAIR-WALDBURG, 1974), im "Käse-Lexikon" (KÖSTER, o. J.) sowie im "Molkereilexikon" (SCHULZ und VOSS, 1965) als Schnittkäse ausgewiesen. HANKE (1956) bezeichnet ihn allerdings als halbfesten Schnittkäse, was auch den in der DDR gültigen Vorschriften entspricht (MAIR-WALDBURG, 1974). Deutscher Steppenkäse enthält nach KÖSTER (o. J.) mindestens 30 % Fett in der Trockenmasse, in Dänemark (dort führt der Käse die Bezeichnung Danbo) werden für das Markenzeichen mindestens 45 % gefordert (HANKE, 1956). Im Gegensatz zu Edamer und Gouda besitzt der Steppenkäse Rotschmiere (auf Besonderheiten wird weiter unten eingegangen) und zeigt regelmäßige, gleichmäßig verteilte Löcher von ca. 6 mm Durchmesser (HANKE, 1956).

Bezüglich der Herstellung unterscheiden sich Gouda und Edamer nicht wesentlich. MAIR-WALDBURG (1974) nennt als Herstellungsmerkmale: Verarbeitung von pasteurisierter Milch, kleiner bis mittlerer Bruch, Waschen und leichtes Nachwärmen des

Bruches, Vorpressen in der Wanne und Formen und Pressen in der Form.

Bei der Produktion von Edamer erfolgt nach der meist durchgeführten Kurzzeiterhitzung die Zugabe von 0,5 - 1 % Säurewecker (gebräuchlich ist nach SIEWERT, (1979) ein aus 75 % *Sc. cremoris*, 15 % *Sc. diacetylactis*, 5 % *Sc. lactis* und 5 % *L. citrovorum* bestehender Starter) und nach Erreichen von 7,0 - 7,5⁰ SH die Labzugabe. Das Einlaben dauert bei 30 - 32 °C 25 - 30 Minuten. Nach der Bereitung des Bruches auf Hanfkorngröße wird für 20 - 30 min bei gleicher Temperatur vorgäkäst, ein Viertel bis ein Drittel der Molke entfernt und der Bruch mit Wasser von 30 °C gewaschen. Das Nachwärmen findet bei Temperaturen von 36 - 40 °C über 50 - 60 min statt. Vom Nachwärmen ist die Geschmeidigkeit des Teiges abhängig. Das anschließende Vorpressen dauert 5 - 10 min, dann wird der Bruch in passende Stücke zerteilt und in die Form übergeführt. Das eigentliche Pressen dauert ca. 2 Stunden. Danach kommt der Käse für 2 - 3, seltener auch 1 - 2 Tage ins Salzbad (18 - 20 % Kochsalz, teilweise auch 23 %, Temperatur ca. 16 °C). Die Reifung erfolgt bei 12 - 14 °C über 3 - 4 Wochen mit zwischenzeitlichem Waschen. Beim anschließenden Wachsen (soweit kein Frühwachsen 2 - 3 Tage nach dem Salzbad oder Folienverpackung durchgeführt wird) werden die Käse in Wachs von 120 - 140 °C getaucht.

Die Herstellung von Gouda verläuft - sieht man von den in den Niederlanden noch z. T. gebräuchlichen traditionellen Fertigungstechniken ab - ähnlich wie die des Edamer. Unterschiede liegen in der kürzeren Reifung der Milch, dem weniger gewaschenen Bruch, der höheren Nachwärmung (ca. 2 - 4 °C mehr), der längeren Bearbeitung und dem stärkeren Pressen. Gouda besitzt einen festeren Teig als Edamer, eine größere und reichlichere Lochung sowie einen kräftigeren Geschmack. (Alle Angaben zur Herstellung soweit nicht besonders vermerkt bei MAIR-WALDBURG, 1968; SCHULZ und VOSS, 1965; MAIR-WALDBURG, 1974 und KÜSTER, o. J.).

Die Produktion von Steppenkäse ähnelt der des Tilsiters (MAIR-WALDBURG, 1968). HANKE (1956) beschreibt die früher an der Molkereischule in Friedland übliche Technik für die Herstellung von Steppenkäse mit 45 % Fett in der Trockenmasse wie folgt: Nach dem Pasteurisieren werden 3 % Milchsäurebakterien-Reinkultur zugesetzt (nach

KÖSTER, o. J. 0,6 - 1,0 % Reinkultur) und bei 30 - 32 °C für 45 min eingelabt. Der Bruch wird in Haselnußgröße bereitet und 30 - 45 min bei 38 °C nachgewärmt. Nach dem Formen werden die Laibe zweimal trocken gesalzen, danach ins Salzbad gelegt (19 - 21 % Kochsalz, 12 - 14 Std., 15 °C) und während der anschließenden Reifung nach Bedarf geschmiert. Die Reifungstemperatur liegt bei 16 - 18 °C, nach 4 - 6 Wochen ist der Käse verkaufsfertig. (Die Ausführungen von HANKE, 1956 entsprechen weitgehend auch den bei KÖSTER, o. J. gemachten Angaben). Nach Angaben von Herstellern hat sich die Verbrauchererwartung in Bezug auf Steppenkäse allerdings etwas verändert. Der Konsument versteht demnach unter Steppenkäse weniger die Käsespezialität als einen typischen Schnittkäse, der leicht pikant, gewachst und ohne Schmiere sein soll, die bei Sorten, auf denen sie nicht erwartet wird, leicht als unappetitlich empfunden wird. Um diese Anforderungen zu erfüllen, wird vom oben beschriebenen Herstellungsgang insofern abgewichen, als die Käseblöcke länger, d. h. 2 - 3 Tage, im Salzbad verbleiben und während der Reifung nicht geschmiert, sondern nach 2 Wochen gewachst werden. Der Käse enthält 45 % Fett in der Trockenmasse und ähnelt dem dänischen Danbo.

Abschließend sei noch darauf hingewiesen, daß es laut Käse-VO zur Vermeidung der Spätblähung durch Clostridien bei Schnittkäse erlaubt ist, Natrium- oder Kaliumnitrat der Käsereimilch bis zu höchstens 0,2 g/l zuzusetzen, vorausgesetzt, der Käse wird frühestens vier Wochen nach der Herstellung in den Verkehr gebracht (Käse-VO Anlage 3,2.b; zur Problematik: BECKER, 1980; STEINBÜCK, 1980; WINTERER, 1980; GALESLOOT und HASSING, 1983). Außerdem darf Hart-, Schnitt- und halbfester Schnittkäse mit geschlossener Rinde oder Haut zur Vermeidung von Schimmelpilzbefall mit Natamycin (Pimaricin) oberflächenbehandelt werden. Die Behandlung ist so durchzuführen, daß auf dem verkaufsfertigen Käse ein Gehalt von 2 mg/dm², bezogen auf eine höchste Eindringtiefe der Randschicht von 5 mm, nicht überschritten wird (Käse-VO Anlage 3,2.e) und muß kenntlich gemacht werden (Käse-VO § 23 (2)).

2.2 Käse als Biotop für Mikroorganismen

Milch stellt für viele Mikroorganismen ein hervorragendes Nährmedium dar (OTTE, 1976; HAHN et al., 1978). Im Verlauf der Umwandlung dieses Rohstoffes bei der Käseherstellung kommt es zu Verschiebungen der Keimflora (z. B. durch Pasteurisierung, Zugabe von technologisch nutzbaren Mikroorganismen) und zu Veränderungen chemisch-physikalischer Art (z. B. pH-Wert, a_w -Wert, Redoxpotential u. a. m.) sowie in der Regel auch zu Rekontaminationen mit unerwünschten Keimen, die später im fertigen Produkt u. U. zu qualitativen Mängeln oder auch zu einer Gefährdung der Gesundheit des Konsumenten führen können. Einige der für die Mikroflora von Käse wesentlichen Faktoren sollen im folgenden kurz dargestellt werden.

2.2.1 Einfluß der Erhitzung auf die Mikroflora der Rohmilch

Viele Käsesorten, so auch die industriell gefertigten Schnittkäsesorten, werden heute aus erhitzter Milch hergestellt (MAIR-WALDBURG, 1974). Durch diese Wärmebehandlung kommt es zu erheblichen Veränderungen der Mikroflora. So werden die pathogenen Keime anscheinend abgetötet. Ausnahme stellen die Dauerformen pathogener Sporenbildner, z. B. *B. cereus* oder Clostridien, dar (STADHOUDERS et al., 1982). Von den saprophytären Bakterien überlebt ein gewisser Prozentsatz den Erhitzungsprozeß. So liegen nach HEESCHEN et al. (1981) in pasteurisierter Trinkmilch unmittelbar nach der Wärmebehandlung noch 10^3 bis maximal 10^4 Keime/ml vor. Es handelt sich hierbei in der Hauptsache um grampositive Keime der Genera *Streptococcus* (darunter die sog. Enterokokken aus der serologischen Gruppe D), *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Bacillus* und *Clostridium* sowie als Vertreter der gramnegativen *Alcaligenes tolerans* (STADHOUDERS et al., 1982). Von diesen haben für die anschließende Käseherstellung vor allem anaerobe Sporenbildner (*Cl. tyrobutyricum*) als Erreger der Spätblähung (KUNDRAT, 1971) und die Enterokokken Bedeutung. Letztere kommen in Käse sehr häufig vor (s. Tab. 3) und sowohl mögliche Pathogenität als auch Verursachung technologischer Schäden, aber auch eine Bedeutung für die Aromabildung werden diskutiert (KIELWEIN, 1977 b).

2.2.2 Möglichkeiten der Rekontamination bei der Käseherstellung

Während des Transportes der Milch vom Pasteurisierungsautomaten zu den Stapel- und Vorreifungstanks und bei der Käsefertigung, die größtenteils in einem offenen System stattfindet, sind die Möglichkeiten der Rekontamination bzw. der Verstärkung einer Ausgangskontamination vielfältig.

So gelangen etwa coliforme Keime bereits in Milchleitungen und Tanks zur Käse-reimilch, wofür nach Untersuchungen von BUSSE (1981) Reinigungstotstellen, inadäquate Leitungsführung (Blindstutzen), defekte Dichtungen und durch Umbauten überlastete Transport- und Reinigungssysteme verantwortlich sind. Auf diese Weise werden zum Beispiel bei der Camembertproduktion über 90 % der Chargen schon in der Kesselmilch rekontaminiert (BUSSE, 1980). Auch DOMMETT (1970) lokalisierte bei Verlaufsuntersuchungen in der Cheddarherstellung die Hauptquelle der Rekontamination schon vor dem Einlaben. Des weiteren ist bei der Bruchbereitung durch die Bearbeitungsgeräte (YALE, 1943) eine ständige Belastung vor allem durch Coliforme möglich. Besonders das Aus- und Einhängen der Schneidewerkzeuge (WINTERER, 1976) und mangelnde Sorgfalt bei deren zwischenzeitlicher Aufbewahrung (BUSSE, 1981) spielen dabei eine Rolle. Einer Kontamination der Produktionsanlage durch die Verwendung nicht einwandfreien Brauchwassers kommt ebenfalls Bedeutung zu (SINGH und RANGANATHAN, 1974). So ist nach Angabe von KORNACKI und MARTH (1982 b) infolge einer fehlerhaften Brauchwasseraufbereitung die von MARIER et al. (1973) beschriebene Lebensmittelvergiftung durch enteroinvasive E. coli in französischem Weichkäse ausgelöst worden. Nach WINTERER (1976) und SINGH und RANGANATHAN (1974) stellt auch mangelnde persönliche Hygiene des Personals eine Rekontaminationsquelle bei der Käseherstellung dar. Detaillierte Angaben zu den Kontaminationsraten an verschiedenen Stellen der Käseproduktion macht BRANDL (1984) nach umfangreichen Untersuchungen an österreichischen Exportbetrieben. So beträgt die Kontaminationsrate der Milch im Stapeltank 2,6 %, bei Einlauf in den Käsefertiger 9,8 %, in der eingelabten und beimpften Kesselmilch 10,2 %, im Bruch bei Einlauf in die Vorpresswanne 32,3 % und im Bruch in der Vorpresswanne 77,6 %.

Besondere Bedeutung für die Entwicklung der Coliformen im Käse kommt auch dem Zeitpunkt der Rekontamination zu. In der Weichkäseerei führt das Auftreten coliformer Keime bereits in den Vorreifungstanks zu den größten Problemen (BUSSE, 1981), dasselbe gilt nach GINZINGER (1981) auch für die Emmentalerherstellung (Rohmilchkäseerei). LOANE et al. (1977) weisen für die Cheddarproduktion darauf hin, daß jede Kontamination vor der Bearbeitung der Käsemasse zu höheren Keimzahlen und längerer Nachweisbarkeit (mindestens 4 Wochen) der Coliformen führt.

Während für die Rekontamination durch Coliforme vor allem betriebshygienische Mängel im Vordergrund stehen, ist für das Auftreten von Staphylokokken im Käsebruch eine direkte oder indirekte (über Oberflächen) Kontamination durch das Personal verantwortlich (SINELL und MENTZ, 1971). Eine ungenügende Pasteurisierung oder die Vermischung mit Rohmilch muß allerdings ausgeschlossen sein (DONNELLY et al., 1964; ZEHREN und ZEHREN, 1968). Da 30 - 50 % der gesunden Bevölkerung Staphylokokkenträger sind (v. a. auf den Schleimhäuten der Nase; BRYAN, 1972; KEOGH, 1971), muß nach direktem Kontakt (STADHOUDERS et al., 1982) beim Schneiden, Formen und Pressen immer mit einer Kontamination der Ware durch diese Keime gerechnet werden; auch dann, wenn Personen mit Katarrhen oder eitrigen Hautläsionen von der Mitarbeit ausgeschlossen bleiben.

Psychrotrophe Keime, insbesondere Pseudomonaden, finden ihren Zugang zum Käse hauptsächlich von Geräten und Leitungen aus (KIELWEIN, 1970, 1975). Sie stammen aus Ablagerungen oder dem Brauchwasser (BECK, 1972; KUNDRAT, 1966) und haben eine erhebliche Resistenz gegenüber Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen (BECK, 1972). BECK (1972) erwähnt auch den Menschen als Infektionsquelle für die Milch.

Bei einigen Keimen muß neben dem Überleben der Pasteurisierung (s. 2.2.1) noch mit einer zusätzlichen Kontamination während des Herstellungsprozesses gerechnet werden. So belasten Enterokokken aus vorhergehenden Chargen, die auf Geräteoberflächen der Reinigung und Desinfektion widerstanden haben, erneut die Kesselmilch (KIELWEIN, 1977 b, 1978). Ebenso kann das Personal für eine weitere Zunahme der Enterokokkenzahlen verantwortlich sein. Auch Dauerformen von *B. cereus*, die in die Molkerei über die Rohmilch eingeschleppt werden, können sich v. a. in der

warmen Jahreszeit auf den milchberührenden Oberflächen (sogar im Plattenerhitzer) anreichern und zum regelmäßigen Bestandteil der Rekontaminationsflora werden (STADHOUDERS et al., 1982).

Zusammenfassend sind für die Rekontamination bei der Käseherstellung i. d. R. technische Unzulänglichkeiten verantwortlich, die "ökologische Nischen" in der Produktionskette entstehen lassen (STADHOUDERS et al., 1982), in denen sich Kontaminanten aus der Rohware oder vom Personal halten können oder der direkte Kontakt zwischen Molkereipersonal und der Milch bzw. dem Käse.

2.2.3 Chemisch-physikalische Veränderungen im Verlauf der Produktion und der Reifung bzw. Lagerung und ihre Einflüsse auf die Bakterienflora im Käse

Zur besseren Übersicht wird im folgenden Kapitel bei der Besprechung der chemisch-physikalischen Veränderungen und ihrer Einflüsse auf die bakterielle Flora unterschieden zwischen Veränderungen, die eindeutig auf die Starterkulturen zurückgehen und solchen, die durch Produktionstechnik und Reifungsvorgänge entstehen. Allerdings ist bei der Reifung von Schnitt- und Hartkäsen eine Beteiligung der Starterkulturen oder ihrer Enzyme (LÜBENAU-NESTLE und MAIR-WALDBURG, 1968; RITTER, 1968) auch nach dem Absterben der Keime als gegeben anzusehen und die Trennung in diesem Fall willkürlich.

2.2.3.1 Vom Starter induzierte chemisch-physikalische Veränderungen und deren Wirkung auf andere Mikroorganismen

Änderung des pH-Wertes: Träger der bei allen Käsesorten am Anfang der Produktion stattfindenden Milchsäuregärung sind homofermentative (*Sc. cremoris*, *Sc. lactis*, *Sc. thermophilus*) Milchsäurestreptokokken und heterofermentative (*L. citrovorum*, *Lb. fermenti*, *Lb. brevis*) Milchsäurebakterien (LÜBENAU-NESTLE und MAIR-WALDBURG, 1968). Für Schnittkäse ist die damit verbundene pH-Wert-Entwicklung von KAMMER-LEHNER (1970) eingehend untersucht worden (s. Tab. 1).

Tabelle 1: pH-Wert-Kennzahlen in den einzelnen Produktionsabschnitten beim Schnittkäse (nach KAMMERLEHNER, 1970)

Fabrikationsprozeß	Gouda pH	Edamer pH	Tilsiter pH
Käseireimilch vor dem Einlaben	6,50-6,55	6,53-6,58	6,48-6,55
Milch vor dem Waschen bzw. Nachwärmen	6,47-6,52	6,48-6,54	6,33-6,45
Molke-Wasser-Gemisch nach dem Nachwärmen	6,55-6,57	6,57-6,59	6,35-6,40
Molke-Wasser-Gemisch vor dem Formen des Bruchs	6,46-6,48	6,47-6,49	6,20-6,30
Käse vor dem Salzbad*	5,85-6,05	6,00-6,10	5,35-5,65
Käse nach dem Salzbad*	5,15-5,25	5,20-5,25	5,10-5,20
Käse im Alter von 30 Tagen	5,28-5,32	5,29-5,34	5,30-5,40

*Das Salzbad sollte stets auf einem pH-Wert von 5,1-5,3 gehalten werden.

Diese pH-Wert-Senkung ist an der Hemmung unerwünschter Keime maßgeblich beteiligt. So zeigen gramnegative Keime unterhalb eines pH-Wertes von 5,0 kein Wachstum (STADHOUDERS, 1975), was bedeutet, daß ein rasch und vollständig säuernder Starter die Vermehrungsfähigkeit von Coliformen stark einzuschränken in der Lage ist. Das wird von FRANK et al. (1977), PARK et al. (1973) und MOURGUES et al. (1977) für Weichkäse, von FRYER (1974), GINZINGER und OSL (1983), KORNACKI und MARTH (1982 a) und WINTERER (1976) für Schnittkäse, von HARGOVE et al. (1969) für Cheddar, von FAHMY und YOUSSEF (1974) für Damiettakäse und von GAYA et al. (1983) für spanischen Schafskäse bestätigt.

Auch für *S. aureus* werden mit sinkendem pH-Wert die Überlebensbedingungen schlechter, wie aus Untersuchungen von IBRAHIM (1977), McLEOD et al. (1962) und TATINI et al. (1971) an Cheddar, von SOMM (1970) an Camembert und von TUCKEY et al. (1964) an verschiedenen Sorten hervorgeht. Die Fähigkeit enterotoxinogener *S. aureus* zur Toxinbildung scheint in einem Milieu mit niedrigem pH-Wert herabgesetzt (REISER und WEISS, 1969; VAN SCHOUWENBURG-VAN FOEKEN et al., 1979; SCHEUSNER et al., 1973; TATINI et al., 1971; TATINI, 1973).

Die Neigung von Sporenbildnern zur Bildung ihrer Dauerformen ist ebenfalls vom pH-Wert beeinflusst. So zeigt *Cl. perfringens* im sauren Milieu kaum Versporungstendenzen (HILDEBRANDT und KATSARAS, 1981; HALLMANN und BURKHARDT, 1974) und MIKOLAJCIK et al. (1973) stellen bei steigender Säuerung in Magermilch von pH 6,5 auf 5,0 eine Abnahme der vegetativen Zellen von *B. cereus* sowie ein Sistieren der Sporenauskeimung fest.

Änderung des Redox-Potentials: Die Milchsäurebakterien produzieren eine Reihe von reduzierenden Substanzen und senken kontinuierlich das Redox-Potential (TATINI et al., 1971). Durch reine Milchsäuregärung werden Werte von -130 mV bis -140 mV bei einem pH von 5,0 erreicht, Werte, die auch in einem guten Gouda vorliegen. Bei Anwesenheit coliformer Bakterien oder auch anderer H_2 -Produzenten wie *Lb. bif fermentans* und *Cl. tyrobutyricum*, kann das Redox-Potential bis auf -290 mV absinken. Ein niedriges Redox-Potential schränkt die Vermehrung der aeroben Bakterien ein und schafft gleichzeitig günstigere Bedingungen für anaerobes Wachstum, was die Gefahr von Fehlgärungen und Strukturschäden im Käse mit sich bringt. (Alle Angaben zur Veränderung des Redox-Potentials soweit nicht anders vermerkt bei HEINRICH, 1968 und STADHOUDERS, 1975).

Veränderungen des Nährstoffangebotes: Eine aktive Starterkultur ist in der Lage, durch vollständigen Lactoseverbrauch innerhalb von 1 - 2 Tagen anderen Keimen dieses Nährsubstrat weitgehend zu entziehen (VAN SCHOUWENBURG-VAN FOEKEN

et al., 1979). Vor allem die Vermehrung von Enterobacteriaceae wird dadurch eingeschränkt (STADHOUDERS, 1975). Ein relativer Mangel an einzelnen Wuchsstoffen, z. B. Nicotinamid bei *S. aureus* (IANDOLO et al., 1965), kann ebenfalls durch Konkurrenz mit den Milchsäurestreptokokken ausgelöst werden.

Sonstige Veränderungen der chemischen Beschaffenheit: Die Milchsäureflora scheint auch durch andere, teilweise noch nicht näher bekannte Mechanismen in der Lage zu sein, z. B. Staphylokokken (PETRUSCHINA und SAWJENKOWA, 1981) und Salmonellen (GILLILAND und SPECK, 1972) zu hemmen: Als Ursachen werden die Bildung von H_2O_2 , antibiotischen Substanzen und flüchtigen Fettsäuren bzw. die Anwesenheit undissoziierter Säuremoleküle diskutiert (IDF, 1980; GOEPFERT et al., 1968, SPECK, 1972; TZANNETIS und PAPA VASSILIOU, 1975).

Ursachen von Starterfehlern: Die vielfältigen Aufgaben, die der Säurewecker bei der Käseherstellung erfüllt, können nur von aktiven Säuerungskulturen vollständig und in der nötigen Zeit geleistet werden. Treten die vom Starter induzierten Veränderungen der chemisch-physikalischen Beschaffenheit bei der Käseherstellung nicht ein, können Probleme durch unerwünschte Vermehrung von Fremdkernen die Folge sein. Gründe für ein teilweises oder vollständiges Versagen des Starters können im wesentlichen Antibiotikarückstände in der Milch (MARTI, 1973, PARK et al., 1973; THATCHER und ROSS, 1960) oder ein Befall der Starterkulturen mit Bakteriophagen (STADHOUDERS, 1975; TATINI et al., 1971) sein. Auch eine zu hohe Nachwärmtemperatur während der Herstellung kann die Vermehrungsfähigkeit und Stoffwechselaktivität der Milchsäurestreptokokken einschränken (UNTERMANN, 1974; YALE, 1943).

Allerdings haben Antibiotikarückstände in der Milch für die Käseherstellung an Bedeutung verloren, seit verstärkte Kontrollen und die nach Güteklassen gestaffelte Bezahlung der Milch eingeführt wurden (STADHOUDERS, 1975).

Zur Verringerung des Risikos durch Bakteriophagenbefall werden heute vermehrt Mischkulturen in Rotationsverfahren eingesetzt (RASH und KOSIKOWSKY, 1982;

SIEWERT, 1979; TATINI et al., 1971). Die Verwendung thermophiler Streptokokken (*Sc. thermophilus*) und Lactobacillen (*Lb. helveticus*, *Lb. lactis*) in Mischkulturen beugt einer verzögerten Säureentwicklung nach Hitzeschädigung der mesophilen Starterkulturen vor (LÜBENAU-NESTLE und MAIR-WALDBURG, 1968; STADHOUDERS, 1975).

2.2.3.2 Vom Starter unabhängige chemisch-physikalische Veränderungen und ihre Wirkung auf Mikroorganismen

Wasseraktivität und Kochsalzgehalt: Die Wasseraktivität (a_w -Wert) ist das Maß für das den im Käse vorhandenen Mikroorganismen zur Verfügung stehende Wasser. Sie wird definiert als der Quotient aus dem Wasserdampfdruck über einem Lebensmittel und dem Wasserdampfdruck von destilliertem Wasser bei gleicher Temperatur. Für den a_w -Wert im Käse ist hauptsächlich der Kochsalzgehalt verantwortlich, demgegenüber treten andere lösliche Substanzen, die bei der Reifung anfallen (nach SIMONART und POFFE, 1970 v. a. löslicher Stickstoff), in den Hintergrund (alle Angaben, soweit nicht besonders vermerkt, bei STADHOUDERS, 1975).

Eine ausreichende Wasseraktivität ist für Wachstum, Morphologie, Beweglichkeit und Stoffwechselaktivität von Mikroorganismen notwendig (TROLLER, 1980). So hält TATINI (1973) die Höhe der Wasseraktivität für einen der Faktoren, die das Toxinbildungsvermögen von *S. aureus* beeinflussen. Auch wenn von einer Kontrolle der Keimzahl im Käse durch die Höhe des Salzgehaltes berichtet wurde, wie beispielsweise von FAHMY und YOUSSEF (1974) für Coliforme bzw. von NAGUIB et al. (1979 a) für *S. typhi* in Damiettakäse sowie von YANAI et al. (1976) für die Gesamtkeimzahl in eingelegtem Käse, ist, sofern nicht Salz als spezifischer Hemmstoff nachgewiesen wird (STADHOUDERS, 1975), die a_w -Wert-Erniedrigung für diesen Effekt verantwortlich. Keinen Einfluß hatte nach Angaben von HARGROVE et al. (1969) der Salzgehalt auf Vermehrung und Überleben von Salmonellen in Cheddar und Colby sowie von YANAI et al. (1976) auf die Zahl an Coliformen und Enterokokken in eingelegtem Käse.

Einflüsse der Temperatur: Auf den Einfluß, den eine hohe Nachwärmtemperatur auf die Starterstreptokokken haben kann, wurde bereits bei der Besprechung der Ursachen von Starterfehlern hingewiesen (UNTERMANN, 1974; YALE, 1943). Auch während der Reifung und der Lagerung kommt der Temperatur Bedeutung zu. So soll *S. typhimurium* in Cheddar bei niedrigerer Lagertemperatur eine deutlich verlängerte Überlebenszeit aufweisen (GOEPFERT et al., 1968), nach PARK et al. (1970) von 7 auf 10 Monate steigend bei einer Temperaturerniedrigung von 13 °C auf 7 °C. TUCKEY et al. (1964) geben für Staphylokokken in Cheddar und Colby eine geringere Keimzahlreduktion bei einer Reifungstemperatur von 7,2 °C an als bei 10 °C oder 12,7 °C. Auch *Sc. faecalis* zeigte bei 7,2 °C innerhalb von 180 Tagen eine geringere Abnahme in Cheddar als bei 12,8 °C (JENSEN et al., 1973). Nach KOSIKOWSKY und DAHLBERG (1948) sollen in natürlich kontaminiertem Cheddar bei einer Lagertemperatur von 10 °C nach 120 Tagen, bei einer solchen von 15,5 °C dagegen schon nach 60 Tagen Enterokokken nicht mehr nachweisbar gewesen sein. TZANNETIS und PAPA VASSILIOU (1975) fanden bei Versuchen mit *S. aureus*, *Sh. sonnei* und *S. typhimurium* in eingelegtem griechischen Hart- und Weichkäse, daß eine höhere Lagertemperatur zwar eine initiale Keimvermehrung nach der Kontamination ermöglicht, insgesamt gesehen aber für ein schnelleres Absterben dieser Keime verantwortlich ist. Eine mögliche Erklärung für die protektive Wirkung tiefer Lagertemperaturen diskutieren JENSEN et al. (1973) für Enterokokken. So sinkt möglicherweise bei Kühlagerung die Stoffwechselaktivität der Keime und es werden weniger giftige Stoffwechselprodukte angehäuft und weniger Energie verbraucht, was eine längere Überlebensdauer auf einem niedrigeren Stoffwechselniveau ermöglicht.

Alter der Käse: Die mit fortschreitendem Alter der Käse einhergehenden Reifungsvorgänge werden zum Teil wesentlich von den oben schon angesprochenen Parametern bestimmt und sind stark von der jeweiligen Käsesorte abhängig. So kommt es bei Weichkäsen im Verlauf der für diese Gruppe typischen Reifung von außen nach innen im Anschluß an eine durch die Aktivität der Starterkulturen zunächst bedingte

Senkung zu einem raschen Anstieg des pH-Wertes, der auf die Tätigkeit der zugesetzten Schimmel- bzw. Schmierekulturen zurückzuführen ist (LÜBENAU-NESTLE und MAIR-WALDBURG, 1968). Hiermit werden z. B. die Überlebensbedingungen für Coliforme mit zunehmender Reifung wieder besser, so daß eine erneute Vermehrung möglich ist (BRANDL, 1976; FANTASIA et al., 1975). In Schnittkäsen liegen die Verhältnisse für Coliforme dagegen ungünstiger, was auch aus Tab. 1 hervorgeht (BRANDL, 1976, 1979). Andere Veränderungen, die im Verlauf der Reifung das die Mikroorganismen beherbergende Milieu bestimmen, wurden zum Teil bereits erwähnt, so z. B. die Erhöhung der Trockenmasse durch Wasserverlust, ein Salzausgleich bei oberflächengesalzenem Käse von außen nach innen, die Erniedrigung des Redox-Potentials und ein gewisser Nährstoffverbrauch. Dazu kommen noch enzymatische Abbauvorgänge am Casein und am Fett, die zum Auftreten von auf die Mikroflora ebenfalls einwirkenden Metaboliten, z. B. freien Fettsäuren, führen.

Unabhängig davon, auf welchen der oben aufgeführten Wegen (Überleben der Pasteurisierung, technologisch notwendiger Zusatz, Rekontamination) die Mikroorganismen in den Käse gelangt sind, gilt, wie für alle anderen festen Lebensmittel auch, daß sie in ungleichmäßiger Verteilung und ortsgebunden vorliegen (GINZINGER, 1979 a). Die Heterogenität wird durch die Art der Reifung (bei Weichkäsen von außen nach innen, bei Schnittkäsen oder Hartkäsen von innen nach außen) noch verstärkt.

So fand DOMMETT (1974) im Durchschnitt um 40 % weniger Coliforme und um 27 % weniger E. coli in den Außenschichten von Cheddar als im Inneren und DEVOYOD (1969) im gereiften Roquefort die Enterokokkenzahl in der Außenschicht um 83 % gegenüber dem Inneren erniedrigt. BRANDL et al. (1978) beziffern die Zahl coliformer Keime im Camembertinneren als regelmäßig um 3 - 4 Zehnerpotenzen niedriger als in Untersuchungsmaterial, das Rinde aufweist. Auch innerhalb einer Charge können zwischen den einzelnen Camembertläiben Unterschiede in der Coliformenzahl von bis zu 3 Zehnerpotenzen herrschen (BRANDL, 1976). Über gesicherte Unterschiede zwischen den Coliformengehalten der Schnittkäse einer Charge berichtet WINTERER (1976).

Die heterogene Verteilung der Keime sowohl im Bruch als auch im fertigen Käse ist als eines der Hauptprobleme bei der Bewertung bakteriologischer Käseuntersuchungen anzusehen und muß bei der Aufstellung von Probenplänen berücksichtigt werden.

2.2.3.3 Subletale Schädigung der Mikroorganismen

Zahlreiche, z. T. auch bei der Herstellung und Lagerung von Käse wesentliche physikalische und chemische Faktoren, wie hohe oder niedrige Temperaturen, Austrocknung, Säuerung, ungünstige osmotische Verhältnisse, können bei Mikroorganismen eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Schädigung hervorrufen (MOSSEL und CORRY, 1977). Betroffen sind unterschiedliche Bestandteile der Bakterienzelle (Zellwand, Proteine, RNA, Ribosome, DNA), in der Hauptsache aber Membranstrukturen (DUITSCHAEVER und JORDAN, 1974) sowie die zelluläre RNA-Synthese (BEUCHAT und LECHOVICH, 1968; CLARK et al., 1968). Vor Abschluß einer Regeneration können Inhaltsstoffe von Selektivmedien, die ungeschädigten Keimen ein selektives Anwachsen ermöglichen, die Vermehrung geschädigter verhindern (MOSSEL et al., 1978). So zeigen subletal geschädigte Staphylokokken eine verringerte NaCl-Toleranz (BUSTA und JEZESKI, 1963; TERPLAN und ZAADHOF, 1978). Bei Enterokokken kann neben der NaCl- auch die Natriumazidresistenz sinken (ASPERGER, 1976; TZANNETIS et al., 1982). Enterobacteriaceae werden empfindlich gegenüber Gallensalzen (MOSSEL und HARREWIJN, 1972; SCHEUSNER et al., 1971) und Brillantgrün (MOSSEL und VINCENTIE, 1968).

Nach Angaben von RAY und SPECK (1973) können in Lebensmitteln je nach Art und Ausmaß des Bearbeitungsstressses 60 - 90 % der Keime geschädigt sein. Das Nichtanwachsen solcher Keime auf Selektivmedien täuscht bei quantitativen Analysen einen tatsächlich nicht gegebenen niedrigen Keimgehalt vor. Um dies zu verhindern, ist man heute in vielen Fällen dazu übergegangen, in den Untersuchungsgang einen Wiederbelebungsschritt durch ein nicht selektives Medium einzuschalten. Ein Keim-

wachstum soll während der Wiederbelebung nicht stattfinden. Dazu sind entweder Vorversuche über die zur Erholung notwendige Zeit Voraussetzung (MOSSEL und RATTO, 1970; RAY und SPECK, 1973; WARSECK et al., 1973) oder es müssen Analyseverfahren gewählt werden, deren quantitatives Ergebnis vom Keimwachstum nicht beeinflusst wird, z. B. MPN-, surface-overlay- oder Membranfiltertechniken.

Verschiedene Methoden der Wiederbelebung in Abhängigkeit von den zu prüfenden Mikroorganismen sind zwar bei der Untersuchung von Milchprodukten angewandt worden (ASPERGER und WINTERER, 1978; COOKE et al., 1982; EFTHYMIU et al., 1974; HALL et al., 1969; MOSSEL und RATTO, 1970; TAKACS et al., 1979), ein optimales Verfahren steht aber noch aus (MOSSEL et al., 1978). Kurzzeitmethoden sollen ausreichend wirksam und für die Praxis am rationellsten sein (ASPERGER und WINTERER, 1978; COOKE et al., 1982; MOSSEL und RATTO, 1970; TAKACS et al., 1979). Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei Käseuntersuchungen vereinzelt eine Wiederbelebung erwähnt wurde (EFTHYMIU et al., 1974), detaillierte Untersuchungen aber noch ausstehen.

2.3 Ursprung, Vorkommen, Entwicklung und Bedeutung verschiedener Mikroorganismen in Käse

2.3.1 Gesamtkeimzahl

Ihren Ursprung hat in Käse die Zahl der aeroben mesophilen Keime in der Rohmilchflora, wenn keine Hitzebehandlung der Milch erfolgt ist, in den Überlebenden der Pasteurisation (s. 2.2.1), in der Zugabe der technologisch genutzten Bakterien (s. 2.1) sowie in den Rekontaminanten während des Herstellungsprozesses (s. 2.2.2). In Tab. 2 finden sich einige Angaben aus der Literatur zur Höhe der Gesamtkeimzahl in verschiedenen Käsesorten.

Während der Produktion steigt die Gesamtkeimzahl rasch an. So geben WILLIS et al. (1982) für Bonbel einen Anstieg um 4 und JENSEN et al. (1973) für Cheddar um 2 Zehnerpotenzen an. Ihren maximalen Wert erreicht die Gesamtkeimzahl von

Tabelle 2: Gesamtkeimzahl in verschiedenen Käsesorten (nach Literaturangaben)

Autor(en)	Käsesorte	Anzahl der Proben	Käsealter (Lagertemperatur)	Keimzahl/g
ASPERGER et al. (1983)	Mozzarella	-	verkaufsfertig	3×10^6
CLARK u. REINBOLD (1967)	Cheddar	41	Reifung abgeschlossen (7,2°C)	$4,5 \times 10^5 - 1,0 \times 10^8$
DEVROYOD (1969)	Roquefort	-	100 Tg.	$3,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$
GINZINGER (1979 b)	Emmentaler	-	1 Tg.	$4,4 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$
HALL et al. (1967)	verschiedene	26	Reifung abgeschlossen	$2,1 \times 10^7$
JENSEN et al. (1977)	Cheddar	-	180 Tg. (7,2°C)	$2,0 \times 10^5$
	Cheddar	-	180 Tg. (12,8°C)	ca. 10^6
KOSIKOWSKY u. DAHLBERG (1948)	Cheddar	-	180 Tg. (10°C)	$2,6 \times 10^7$
OTTE (1976)	Schnittkäse	15	Reifung abgeschlossen	$4,3 \times 10^7$
SIMONART u. POFFE (1970)	Gouda	-	3. Tg.	$3,0 - 3,8 \times 10^8$
THOMPSON u. MARTH (1974)	Parmesan	-	3 Wo.	10^9
WILLIS et al. (1982)	Bonbel	-	3 Mo.	8×10^6

Gouda im allgemeinen nach dem Pressen. Sie besteht zu diesem Zeitpunkt hauptsächlich aus den Milchsäurestreptokokken (SIMONART und POFFE, 1970). Die Salzzugabe reduziert die Gesamtkeimzahl etwas. Je nach Salzausgleich ist diese Reduktion an verschiedenen Stellen im Käse unterschiedlich stark. So errechneten SIMONART und POFFE (1970) für Gouda eine Abnahme von 40 % im Inneren und 70 % am Rand.

Bei der Cheddarherstellung wird mit dem "cheddaring", dem Mahlen und Salzen des Bruches, das Abfallen der Gesamtkeimzahl eingeleitet, das in den ersten 10 Tagen bei 7,2 °C Lagertemperatur eine Zehnerpotenz, bei 12,8 °C ca. 2 Zehnerpotenzen beträgt. Der Einfluß der erhöhten Lagertemperatur wirkt sich allerdings nach 60 Tagen so aus, daß wiederum ein leichter Anstieg der Gesamtkeimzahl zu verzeichnen ist, während bei 7,2 °C die Reduktion andauert (JENSEN et al., 1973). Gegen Ende der Lagerzeit hat sich die Gesamtkeimzahl in Bonbel um 2 Zehnerpotenzen (WILLIS et al., 1982) und in Cheddar um 1 - 3 Zehnerpotenzen (JENSEN et al., 1973; KOSIKOWSKY und DAHLBERG, 1948) gegenüber ihrem Maximalwert reduziert.

Eine Bedeutung, sei es im Hinblick auf Herstellungshygiene und potentielle Gesundheitsgefährdung oder zur Voraussage über die Haltbarkeit, kommt der Gesamtkeimzahlbestimmung in Käse als fermentiertem Lebensmittel nicht zu. Sie gibt nach GINZINGER (1979 b) lediglich einen Einblick in das im Käse vorhandene Bakterien- und Enzympotential. Der in der Schweiz etablierte Grenzwert von 10^8 /g für die aerobe mesophile Keimzahl in genußfertigen Lebensmitteln gilt daher ausdrücklich nicht für fermentierte Produkte (Verordnung über die hygienisch-mikrobiologischen Anforderungen an Lebensmittel, Gebrauchs- und Verbrauchsgegenstände vom 14. Sept. 1981).

2.3.2 Cytochromoxidase-positive Keime

Von der Gruppe der Cytochromoxidase-positiven Keime kommt in der Milchwirtschaft vor allem Vertretern der Genera *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*

und Flavobakterium Bedeutung zu (REUTER, 1972). Dabei handelt es sich um gram-negative Bakterien, die aufgrund ihrer Temperaturansprüche zu den Psychrotrophen gerechnet werden (LOTT, 1972). Als psychrotroph werden diejenigen Mikroorganismen bezeichnet, die sich noch bei Temperaturen unter 7 °C vermehren können (BECK, 1972; REUTER, 1972; TOLLE und WHITTLESTONE, 1976). Von anderen gram-negativen, psychrotrophen Bakterien, die aus Lebensmitteln isoliert werden können, z. B. aus der Familie der Enterobacteriaceae (BECK, 1972; TOLLE und WHITTLESTONE, 1976), trennt sie ihre Fähigkeit, das Enzym Cytochromoxidase zu bilden (REUTER, 1972).

Eine Reihe von Untersuchern gibt als ihr natürliches Reservoir Erde, Oberflächenwasser, Faulschlamm und Faeces an und weist auf die ubiquitäre Verbreitung dieser Keime hin (BECK, 1972; TOLLE und WHITTLESTONE, 1976; KIELWEIN, 1968; 1970; KUNDRAT, 1966; STOKES und REDMOND, 1966). Da Pseudomonaden bei der Pasteurisierung mit großer Sicherheit abgetötet werden (BECK, 1972; KUNDRAT, 1966; TOLLE et al., 1971), ist ihr Nachweis in hitzebehandelter Milch und Milchprodukten i. d. R. auf eine Rekontamination, vor allem durch Brauchwasser, in den Produktionsanlagen zurückzuführen (KIELWEIN, 1975; KUNDRAT, 1966; TOLLE und WHITTLESTONE, 1976). Pseudomonaden können sich in Ablagerungen auf Geräten und Milchleitungen halten (KIELWEIN, 1970) und erweisen sich z. T. als sehr widerstandsfähig gegenüber Desinfektionsmaßnahmen (BECK, 1972). Dementsprechend sieht KIELWEIN (1970) hohe Pseudomonadenzahlen als Indikator für nicht ordnungsgemäß gereinigte und desinfizierte Gerätschaften an.

Daß in der Milchwirtschaft unter den von REUTER (1972) erwähnten Genera (s. o.) Pseudomonaden die Hauptrolle spielen, wird von anderen Untersuchern bestätigt. So machen sie nach einer Zusammenstellung verschiedener Literaturangaben bei THOMAS und THOMAS (1973) 3 - 84 % der psychrotrophen Rohmilchflora aus. KIELWEIN (1977 a) gibt an, daß sie mit 33,8 % an der gramnegativen Flora der Anlieferungsmilch beteiligt sind. Alle 4 von REUTER (1972) erwähnten Genera ergeben zusammen 60,5 %, 39,5 % sind Enterobacteriaceae. Nach Angaben von NAKAE (1970) beträgt der Anteil der Pseudomonaden an der

gramnegativen psychrotrophen Flora von Milch und Milchprodukten in Japan 52 %. *Ps. aeruginosa* soll nach TOLLE et al. (1971) in 8,5 % (im Winter) und 37,5 % (im Sommer) der von ihnen untersuchten Proben pasteurisierter Trinkmilch enthalten gewesen sein, nach KIELWEIN (1971) in 10 % der von ihm untersuchten Rohmilchproben.

Über das Vorkommen von Pseudomonaden bzw. Psychrotrophen speziell in Käse gibt es nur wenige Angaben. So fand KIELWEIN (1970) in 10 (17,2 %) von 58 Käseproben Pseudomonaden. OTTE (1976) gibt an, daß *Ps. aeruginosa* in 51 Käseproben nicht nachweisbar war. THOMPSON und MARTH (1974) veranschlagten den Gehalt an psychrotrophen Keimen in Parmesan nach der Herstellung auf 10^4 Keimen/g, verweisen aber auf eine sofort einsetzende Reduktion nach Ende der Herstellung.

Angaben von NAKAE (1970) zufolge herrschen für 82 % der in Japan aus Milch und Milchprodukten isolierten Psychrotrophen zwischen 26 und 36 °C optimale Wachstumsbedingungen. Zwischen 37 und 42 °C sterben 81,6 % der Kulturen ab (alle Angaben für eine Bebrütungsdauer von 24 Std.). Ein Vergleich mit den in der Schnittkäserei üblichen Einlabungs- und Nachwärmtemperaturen (s. 2.1) zeigt, daß erst bei maximalen Nachwärmtemperaturen mit einer Abnahme der Psychrotrophen gerechnet werden kann.

Unter den milchwirtschaftlich bedeutsamen Pseudomonaden dominiert die Fraktion der Lipolyten und Proteolyten (NAKAE, 1970). Ihre hitzestabilen Proteasen und Lipasen können in Käse (OLSON, 1980) wie auch in anderen Lebensmitteln zu Geruchs- und Geschmacksabweichungen sowie Nährstoffverlusten führen, wenn zu irgendeiner Zeit der Produktion Keimzahlen von 10^6 - 10^7 Keimen/g erreicht wurden (BECK, 1972). Ihnen kommt also eine Bedeutung als Auslöser von vorzeitigem Verderb vor allem bei Kühlagerungen zu (LOTT, 1972). So sind Pseudomonaden typischerweise für den "stinkenden Verderb" von gekühlter Milch (KUNDRAT, 1966) und für die Entwicklung eines Fäulnisgeruchs, der sog. "Aerobierfäulnis" in Emmentaler (KIELWEIN, 1975), verantwortlich.

Als einzigem Vertreter der Gruppe kommt *Ps. aeruginosa* Bedeutung als Gesundheitsrisiko, insbesondere für Säuglinge, zu (KIELWEIN, 1970). Angaben zum Vor-

kommen dieses Keimes im Käse fehlen oder sind negativ (OTTE, 1976). In der Schweiz besteht ein Grenzwert für 10^4 Ps. aeruginosa/g in genüßfertigen Lebensmitteln (Verordnung über die hygienisch-mikrobiologischen Anforderungen an Lebensmittel, Gebrauchs- und Verbrauchsgegenstände vom 14. Sept. 1981).

2.3.3 Enterokokken

Die in Käseproben mit großer Regelmäßigkeit (s. Tab. 3) nachweisbaren Streptokokken aus der serologischen Gruppe D (Enterokokken) können an vielen Stellen auf dem Weg der Milch von der Gewinnung über den Transport bis zur Verarbeitung Zugang sowohl zum Rohstoff als auch zum Fertigprodukt erlangen. So fanden sich Enterokokken in bis zu 99 % von Rohmilchproben (KIELWEIN, 1978). Die in Rohmilch nachgewiesenen Spezies lassen weniger den früher vermuteten tierfäkalen Ursprung (MATTICK und SHATTOCK, 1943) erkennen, vielmehr ähnelt ihre Zusammensetzung der D-Streptokokkenflora in menschlichen Faeces (MIETH, 1961), auf der Kleidung und den Händen des Stallpersonals (WAES, 1973) und der saprophytären Flora aus Melkmaschinen, Milchleitungen und von Futterpflanzen (KIELWEIN, 1977 b, 1978).

Die der Käseherstellung heute meist vorangehende Pasteurisierung bewirkt bestenfalls eine starke Reduktion der Enterokokken und garantiert nicht ihr Verschwinden aus der Milch (ASPERGER, 1976; BRANDL, 1984; IENISTEA et al., 1970; STADHOUDERS et al., 1982). So konnte KIELWEIN (1978) noch in 46 % von Proben pasteurisierter Milch Enterokokken nachweisen. TOLLE et al. (1971) fanden eine Kontaminationsrate von 34,7 % im Winter und 47,6 % im Sommer. SHANNON et al. (1970) stellten durch nochmalige Laborpasteurisation von 55 Kulturen aus Handelsmilchproben fest, daß 58 % wiederum überlebten und somit nicht durch Fehler im Pasteurisierungssystem in die Handelsmilch gelangt waren. Nach Angaben der gleichen Autoren soll Sc. durans der hitzeunempfindlichste Vertreter der Enterokokken sein, wohingegen TOLLE et al. (1971) ein Überwiegen von Sc. faecalis nach der Hitzebehandlung feststellten.

Innerhalb der Molkerei bieten Tanks, Leitungen und Dichtungen Möglichkeiten für erneute Kontaminationen, insbesondere mit *Sc. durans* (KIELWEIN, 1977 b), einem Keim, der durch seine Nährstoffansprüche und seine psychrotrophen Eigenschaften eine gute Anpassung an die Verhältnisse in der Milchwirtschaft zeigt (KIELWEIN, 1978).

Insgesamt wird ersichtlich, daß ein Enterokokkennachweis in Käse nicht ungewöhnlich ist. In Tab. 3 finden sich einige Angaben zum Vorkommen der Enterokokken in verschiedenen Käsesorten. Tab. 4 gibt einen Überblick über Angaben zum prozentualen Anteil der einzelnen Spezies in Käse und in der Umwelt.

Die Entwicklung der D-Streptokokken im Käse beginnt mit einer starken Vermehrung zu Anfang des Herstellungsprozesses (ERGÜLLÜ, 1982; JENSEN et al., 1973; KOSIKOWSKY und DAHLBERG, 1948; THOMPSON und MARTH, 1974). Nach Angaben von DEVOYOD (1969) für Roquefort bzw. KOSIKOWSKY und DAHLBERG (1948) für Cheddar endet diese Vermehrung mit dem Salzzusatz. Dagegen tritt nach JENSEN et al. (1973) bei der Cheddarproduktion ein Abfallen der Keimzahl erst nach 24 Std. ein, die Enterokokkenzahl bleibt demnach noch einige Stunden nach dem Salzen konstant oder steigt sogar. ERGÜLLÜ (1982) beobachtete in weißem Käse, daß die Keimzahl ihr Maximum erst am 10. Tag erreichte und THOMPSON und MARTH (1974) sehen die Vermehrung der Enterokokken während der Parmesanherstellung erst gegen Ende der ersten Woche als abgeschlossen an.

Während der Reifung bzw. Lagerung wird die Zahl der Enterokokken im Käse wieder reduziert, allerdings sind die Angaben über Geschwindigkeit und Ausmaß widersprüchlich. CLARK und REINBOLD (1967) simulierten im Labor eine dreimonatige Reifung von Cheddar bei 7,2 °C und stellten fest, daß danach in 17 % der Proben nur noch Enterokokken vorhanden waren und sie in ca. einem Viertel der positiven Proben einen Anteil von über 70 % an der Gesamtkeimzahl hatten (zum prozentualen Anteil der einzelnen Spezies s. Tab. 4). Während ERGÜLLÜ (1982) in weißem Käse nach 6 Monaten eine Reduktion um 2 Zehnerpotenzen fand, beobachtete DEVOYOD (1969) in Roquefort nach 100 Tagen nur eine Reduktion in der Außenschicht um ca. eine Zehnerpotenz. JENSEN et al. (1973) berichten für Cheddar,

Tabelle 3: Vorkommen von Enterokokken in Käse (nach Literaturangaben)

Autor(en)	Käsesorte	Anzahl der Proben	Alter der Käse	Vor- kommen (%)	Keim- zahlen/g
BRANDL (1984)	Brinsen	-	-	-	10^5-10^7
BROOKS (1974)	Schmelzkäse	-	-	-	$10-10^3$
CLARK u. REINBOLD (1967)	Cheddar	111	-	74%	-
DEVROYD (1969)	Cheddar	41	3 Mo.	90%	-
ERGÜLLÜ (1982)	Roquefort	-	100 Tg.	100%	10^6-10^7
FOSTER et al. (1942)	weißer Käse	252	10 Tg./6 Mo.	100%	$1 \times 10^8/5 \times 10^6$
INSALATA et al. (1969)	Brick	-	-	unregelmäßig	max. 1×10^8
KIELWEIN (1977b)	Molkereiprodukte	262	-	22%	-
	Hartkäse	30	Reifung abge- schlossen	83%	9.9×10^4
	feste Schnittkäse	22		59%	$1,19 \times 10^4$
	halbfeste	32		81%	$2,9 \times 10^4$
	Weichkäse	26		92%	$4,47 \times 10^4$
OTTE (1976)	Schnittkäse	15		93%	$1,6 \times 10^2$
	Hartkäse	12		100%	$5,7 \times 10^4$
	Weichkäse	12		100%	$2,3 \times 10^5$
ITTER (1976)	Emmentaler (mit Nachgärung)	-		100%	10^3-10^8
STEFFEN et al. (1979)	Emmentaler (mit u. ohne Nachgärung)	100		-	$3,4 \times 10^6$
THOMPSON u. MARTH (1974)	Parmesan	-	1 Wo.	-	10^4

Tabelle 4: Prozentualer Anteil der einzelnen Spezies beim Nachweis von Enterokokken in Käse und in der Umwelt (nach Literaturangaben)

Autor(en)	Untersuchungs- gut	Alter der Käse	Anzahl der Proben	Sc. faecalis (undifferen- ziert)	Sc. faecalis var. faecalis	Sc. faecalis var. liquefactans	Sc. faecalis var. zymogenes	Sc. faecium	Sc. durans	Sc. bovis
MUNDT (1963)	Pflanzen	-	-	-	11%	64%	4%	20%	-	-
MIETH (1962)	Faeces, Rind	-	109	-	-	-	-	18,4%	-	81,6%
MIETH (1961)	Faeces, Mensch	-	105	-	22,4%	16,9%	2,2%	41,6%	2,6%	14,3%
KIELWEIN (1977 b)	Melkmaschine	-	-	-	49,9%	7,2%	-	21,5%	14,2%	7,2%
	Rohmilch	-	-	-	40,4%	12,3%	-	28,0%	10,5%	8,8%
WAES (1973)	Personal, Hände	-	15	88%	-	-	-	8,5%	2,5%	-
WAES (1973)	Personal, Kleidung	-	15	17%	-	-	-	24%	17%	38%
CLARK und REINBOLD (1967)	Cheddar	3 Mo.	41	-	32%	9%	3%	-	56%	-
DEVOD (1969)	Roquefort	100 Tg.	-	-	12%	88%	-	-	-	-
GINZINGER (1978)	Emmentaler	5 Mo.	-	5%	-	-	-	95%	-	-
KIELWEIN (1977b)*	Hartkäse	Reifung abgeschlossen	-	-	19,7%	0,3%	-	14,8%	65,2%	-
	festе Schnittkäse		-	-	5,2%	1,4%	-	49,3%	44,1%	-
	halbfeste Schnittkäse		-	-	37,8%	8,8%	-	32%	21,4%	-
	Weichkäse		-	-	39,9%	10,1%	-	4,2%	45,8%	-
STEFFEN et al. (1979)*	Emmentaler mit und ohne Nachgärung	4, 5 Monate	100	49%	-	-	-	38%	10%	-

Bemerkung: * Prozentualer Anteil der Keimzahlen einzelner Spezies an der Gesamtzahl der Enterokokken

daß die Zahl an *Sc. durans* über 90 Tage konstant blieb und auch *Sc. faecalis* noch deutlich länger überlebte als die Milchsäurestreptokokken. Nach 180 Tagen reduzierte sich die Keimzahl von *Sc. faecalis* bei einer Lagerungstemperatur von 7,2 °C nur um 0,7 und bei 12,8 °C um 1,3 Zehnerpotenzen. Diese Temperaturabhängigkeit bestätigen auch KOSIKOWSKY und DAHLBERG (1948), die angeben, daß Enterokokken bei 10 °C nach 120 Tagen und bei 15,5 °C schon nach 60 Tagen in Cheddar nicht mehr nachweisbar waren. Dieselben Autoren berichten über einen Käsereiversuch an Cheddar mit 2 % *Sc. faecalis*-Reinkultur als Starter, welcher im Bruch vor dem Salzen eine Maximalkeimzahl von $1,3 \times 10^9$ /g erreichte. Nach 180 Tagen Lagerung bei 10 °C fanden sich immer noch Keimzahlen von $6,7 \times 10^8$ /g, nach Lagerung bei 15,5 °C solche von $9,0 \times 10^7$ /g, von denen der Anteil an Enterokokken 70 % ausmachte. Auch KIELWEIN (1970) registrierte in künstlich kontaminiertem und 4 Monate bei 6 °C gelagertem Emmentaler kaum eine Reduktion von *Sc. faecium*, stellte allerdings fest, daß nach einer anschließenden Erhöhung der Lagertemperatur auf 14 °C *Sc. faecium* innerhalb von 14 Tagen abstarb. Als Ursache für die hohe Überlebensrate von Enterokokken diskutieren JENSEN et al. (1973) eine Reduktion der Stoffwechselaktivität, wodurch weniger giftige Metaboliten anfallen.

Weitgehend ungeklärt ist die Beteiligung von D-Streptokokken an der Entstehung von Käsefehlern. RITTER (1976) fand im Gegensatz zu STEFFEN et al. (1979) in nachgegorenem Emmentaler erhöhte Enterokokkenkeimzahlen, die durch das bei der Tyrosindecaboxylierung entstehende Kohlendioxid für die Nachgärung verantwortlich sein sollen. KIELWEIN (1977) vermutet dagegen nur eine direkte Beteiligung an der CO₂-Überproduktion durch eine Stimulierung der Propionsäurebakterien.

Bedeutung würde der Nachweis von Enterokokken in Käse durch eine ihnen von einigen Autoren beigemessene Indikatorfunktion erlangen. Heute wird nicht mehr davon ausgegangen, daß Enterokokken eine Fäkalkontamination anzeigen, wie z. B. BROOKS (1974) und RAMADAN (1960) meinten, doch sollen sich Rückschlüsse auf die Produktionshygiene ziehen lassen. Vor allem die relativ hohe Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen und die damit verbundene lange Nachweisbarkeit werden als Vorteile gegenüber anderen Indikatormikroorganismen angesehen (CHORDASH und INSALATA, 1978; INSALATA et al., 1969; MOSSEL et al., 1978; REUTER, 1978; STADHOUDERS et al., 1982). Nach Ansicht von MOSSEL (1967) und KIELWEIN (1978) ist allerdings in fermentierten Lebensmitteln die Indikatorfunktion aufgrund der hier für D-Streptokokken günstigen Vermehrungs- und Überlebensbedingungen nicht gegeben. Index-Funktion könnten die Enterokokken dagegen aufgrund einer dem Hepatitis-A-Virus ähnlichen Tenazität erhalten (PROVOST et al., 1973). Ein negativer Befund bei der Untersuchung von evtl. fäkal kontaminiertem und später keimtötend behandeltem Material legt auch dessen Freiheit von Hepatitis-A-Erregern nahe (MOSSEL et al., 1978).

Gelegentlich wird berichtet, daß Enterokokken, die sich unter bestimmten Milieubedingungen auf Zahlen von 10^6 - 10^8 Keimen/g vermehrt haben, Lebensmittelvergiftungen auslösen können (HESS, 1972; LÜND und GASSER, 1964; MOSSEL et al., 1978; REUTER, 1978; TOLLE et al., 1971). Als auslösendes Agens vermuten MOORE (1955) und THOMAS und NAMBU DRIPAD (1974) ein Toxin. Demgegenüber sind andere Autoren der Meinung, daß ein Beweis für die ursächliche Beteiligung von D-Streptokokken an Lebensmittelvergiftungen noch nicht erbracht worden ist (BRYAN, 1969 a; CHORDASH und INSALATA, 1978; DEIBEL und SILLIKER, 1963; IDF, 1980). Die Unsicherheit bei der Beurteilung der Enterokokken hinsichtlich eventueller enteropathogener Eigenschaften wird noch dadurch verstärkt, daß aus angelsächsischen Ländern über Versuche berichtet wurde, Enterokokken aufgrund ihrer Resistenz gegen hohe Kochsalzkonzentrationen und Nachwärmtemperaturen (JENSEN et al., 1973) als Säurewecker einzusetzen, vor allem bei der Cheddarherstellung nach der sog. "new-way-method" (COVENTRY et al.,

1978). Hohe Enterokokkenzahlen könnten dann einerseits zu Beanstandungen führen, wie es vor einiger Zeit in Österreich der Fall war, andererseits aber in manchen Ländern bei der Herstellung fermentierter Lebensmittel diesen als technologisch erwünschte Keime zugesetzt werden.

Ebenfalls umstritten ist, ob die Dacarboxylaseaktivität der Enterokokken bei der Anhäufung von biogenen Aminen in verschiedenen Käsesorten eine Rolle spielt, wie von einigen Autoren angenommen wird (BLACKWELL und MABITT, 1965; EITENMILLER et al., 1978; IDF, 1980; KIELWEIN, 1977 b; MOSSEL et al., 1978; RICE et al., 1976; RITTER, 1976). So fanden DAHLBERG und KOSIKOWSKY (1949) in Cheddar keine Abhängigkeit des Tyramingehaltes von der Zahl der Enterokokken und BRANDL (1984) sieht die Aminbildung in Käse durch sortentypische Einflüsse während des Herstellungs- und Reifungsprozesses stärker bedingt als durch die Enterokokkenkonzentration. In neuerer Zeit tauchen kaum mehr Berichte auf, die den Zusammenhang zwischen Käsegenuß und dem Auftreten eines nach DEOGLAS et al. (1967) der Histaminvergiftung ähnelnden Syndroms herstellen. Diese sog. "Käsekrankheit" kann vor allem bei Personen, deren körpereigene Monoaminoxidasen durch genetische Defekte oder durch Medikamente dauernd oder zeitweise gehemmt sind, auftreten (ASATOOR et al., 1963; BLACKWELL, 1963 a und 1963 b; BLACKWELL und MABITT, 1965; FOSTER, 1963; READ und AURORA, 1963; WOMACK, 1963).

2.3.4 *Bacillus cereus*

Sporenbildner sind in der Umwelt weit verbreitete Keime und finden sich praktisch in jeder Rohmilchprobe. Der Anteil der Bacillusspezies macht hier 95 % dieser Flora aus, wovon wiederum 37 % der Stämme zu *B. cereus* gehören. Die restlichen 5 % stellen Clostridien (alle Angaben nach MARTIN (1974) für die USA). Aufgrund der Bildung resistenter Dauerformen werden die Sporenbildner bei der Pasteurisierung der Anlieferungsmilch nicht abgetötet (STADHOUDERS et al., 1982). So fanden HOLBROOK und ANDERSON (1980) pasteurisierte Milch bei einer Untersuchung von 234 Lebensmitteln überproportional oft in der Gruppe derje-

nigen Lebensmittel, die die maximalen Keimzahlen von $10^3 - 10^4$ *B. cereus*/g aufwiesen. Nach MARTIN (1974), der verschiedene Ultrahocherhitzungsverfahren auf ihre Wirkung auf *B. cereus* prüfte, besteht sogar die Gefahr einer Hitze-stimulierung. Nach einer UHT-Behandlung der Milch bei $104,5^\circ\text{C}$ und anschließender 6-stündiger Bebrütung bei 35°C soll die Keimzahl von *B. cereus* aufgrund einer verkürzten Generationszeit höher liegen als vor der UHT-Behandlung.

Zu den Überlebenden der Hitzebehandlung kommen nach STADHOUDERS et al. (1982) noch Kontaminanten aus den Produktionsanlagen der Molkerei hinzu. *B. cereus* kann sich, besonders ausgeprägt in der wärmeren Jahreszeit, in den Anlagen und sogar im Plattenerhitzer anreichern und die Milch der nächsten Charge kontaminieren (STADHOUDERS et al., 1982). Außerdem muß, wie bei anderen *Bacillus*spezies auch (SHEHATA und COLLINS, 1971), mit dem Auftreten psychrotropher Stämme gerechnet werden (HUTCHINSON und TAPLIN, 1978).

Zum Vorkommen von *B. cereus* in Käse finden sich Angaben bei OTTE (1976). Demnach konnten in 39 Hart-, Schnitt- und Weichkäsen Keime dieser Spezies nicht nachgewiesen werden, allerdings in 6 von 12 Schmelzkäseproben.

Zur Entwicklung von *B. cereus* in Cheddar berichten MIKOLAJCIK et al. (1973), daß sich die Keime zwischen dem "cooking" (Nachwärmen des Bruches) und dem "cheddaring" (Mahlen und Salzen des Bruches) schnell vermehren und Reifung bzw. Lagerung im Sporenstadium ein Jahr lang überleben. Dieselben Autoren stellten bei Versuchen zum Verhalten von *B. cereus* in gesäuerter Magermilch fest, daß Sporenauskeimung und Vermehrung vegetativer Zellen bei einem pH-Wert von 5,0 zum Erliegen kommen.

B. cereus wird in neuerer Zeit eine gewisse Bedeutung als Auslöser von Lebensmittelvergiftungen zugemessen (BRYAN, 1972; GILBERT und TAYLOR, 1975; GOEPFERT et al., 1972; HUTCHINSON und TAPLIN, 1978; ORMAY und NOVOTNY, 1970), die nach Ansicht von GIANNELLA und BRASILE (1979) und von TERRANOVA und BLAKE (1978) noch zunehmen wird. Bei Keimzahlen von mehr als 10^5 *B. cereus*/g (GILBERT und TAYLOR, 1975; NIKODEMUSZ et al., 1963) kann es zu Krankheitssymptomen kommen.

Für die Entstehung der Beschwerden sollen mindestens 2 Enterotoxine (TERRANOVA und BLAKE, 1978) verantwortlich sein, die zu unterschiedlichen Krankheitsbildern (Erbrechen bzw. Durchfall) führen (KATSARAS und HILDEBRANDT, 1979). Vor allem in ungarischen Arbeiten wird über die Beteiligung von Milch und Milchprodukten an der Epidemiologie der *B. cereus*-Lebensmittelvergiftung berichtet. So konnten NIKODEMUSZ et al. (1963) in 6,9 % von über 20.000 Lebensmitteln *B. cereus* nachweisen. 38,7 % der positiven Proben waren solche von Milch oder Milchprodukten, von denen wiederum 11,2 % Gehalte von $10^5 - 10^7$ *B. cereus*/g aufwiesen. Berichte speziell über Käse als Ursache derartiger Intoxikationen konnten im Schrifttum nicht gefunden werden.

2.3.5 Koagulase-positive Staphylokokken

Bei in Käse aus pasteurisierter Milch nachweisbaren Koagulase-positiven Staphylokokken handelt es sich i. d. R. um Rekontaminanten, da durch die Pasteurisierung oder jedes gleichwertige Erhitzungsverfahren Staphylokokken mit großer Sicherheit abgetötet werden (ASPERGER, 1974; RITZERFELD, 1971; STADHOUDERS et al., 1982; TERPLAN und ZAADHOF, 1978; ZOTTOLA et al., 1969). Als Hauptrekontaminationsquelle bei der Käseherstellung ist der Mensch zu betrachten (SINELL und MENTZ, 1971). Da bis zu 50 % aller Gesunden Staphylokokkenträger sind (BRYAN, 1972; KEOGH, 1971), kann menschlicher Kontakt eine direkte, bei offenen Produktionssystemen über infizierte Oberflächen und die Luft auch indirekte Kontamination bedingen (STADHOUDERS et al., 1982). Wird Rohmilch zur Käseherstellung verwendet, stellt die Milch euterkranker Tiere ein Risiko dar (MARTI, 1973; MASSON, 1977). Eine Zusammenstellung über das Vorkommen von Staphylokokken in Käse ist in Tab. 5 enthalten.

Eine Kontamination der Kesselmilch mit *S. aureus* kann zu nachweisbaren Mengen dieser Keime im Käse führen (TAKAHASHI und JOHNS, 1959; TUCKEY et al., 1964). Der Herstellungsprozeß vieler Käsesorten ermöglicht eine Vermehrung von *S. aureus*. Ausnahmen scheinen Cottage-Käse (TUCKEY et al., 1964)

Tabelle 5: Vorkommen von Koagulase-positiven Staphylokokken in Käse (nach Literaturangaben)

Autor(en)	Käsesorte	Anzahl der Proben	Alter der Käse	Vorkommen % bzw. Keimzahlen/g
ASPERGER et al. (1983)	Mozzarella	-	verkaufsfertig	kein Nachweis
COLLINS-THOMPSON et al. (1977)	Cheddar (aus past. Milch)	150	Reifung abgeschlossen	93,4% < 100/g < 6,6% ≤ 10 ³ /g
	Cheddar (aus Rohmilch)	150		86,6% < 100/g < 10% ≤ 10 ⁴ /g < 3,4%
DONNELLY et al. (1964)	Cheddar	343	unter 2 Wo.	20% 50-2,0x10 ⁵ /g
FITZ und OWENS (1978)	Cheddar	70		- 2,0x10 ² -2,5x10 ⁴ /g
IBRAHIM (1977)	Cheddar	129	unter 2 Wo.	48,8%
MASSON (1977)	Weichkäse	60	unter 2 Wo.	6,7%
MICKELSEN et al. (1961)	Vacherin	45	-	27,6% 10 ² /g
	verschiedene	125	Reifung abgeschlossen	7,2%
OTTE (1976)	Cheddar	49		12,2%
	verschiedene	51	-	kein Nachweis
SINELL und MENTZ (1971)	verschiedene	204	Reifung abgeschlossen	16,6% 10 ² -10 ³
TESONE und QUEVEDO (1978)	argent.	107	-	78% ≤ 10 ² /g < 11% ≤ 10 ⁴ /g < 11%
	Weichkäse			
SHARPE et al. (1965)	verschiedene	910		9% > 5x10 ⁵ /g, Vorkommen nur in Käse aus Rohmilch

und Ras-Käse (NAGUIB et al., 1979 b) darzustellen. In Colby und Cheddar findet dagegen bei der Produktion ein Anstieg von *S. aureus* um das 6 - 14fache der Ausgangskeimzahl der Milch statt (TATINI et al., 1971). WALKER et al. (1961) geben für Colby eine Staphylokokkenvermehrung um das 6,5 - 29fache an und TAKAHASHI und JOHNS (1959) beobachteten während der Cheddarproduktion eine Keimzahlerrhöhung um das 15 - 45fache.

Über Zeitpunkt und Dauer der für die Staphylokokken günstigsten Bedingungen während der Käseherstellung liegen unterschiedliche Angaben vor. So ist der Anstieg nach WALKER et al. (1961) in Colby zwischen dem Schneiden und Formen des Bruches maximal und endet erst nach Ablauf des ersten Tages. Für Cheddar berichten TATINI et al. (1971) und ROUGHLEY und McLEOD (1961) von einem Wachstum auch über das Salzen hinaus bis zum "dressing" (Formen des Bruches) und dem Beginn der Keimzahlabnahme beim Pressen. Nach Untersuchungen von TUCKEY et al. (1964) enden die günstigen Vermehrungsbedingungen mit der Salzzugabe, nur in oberflächengesalzenen Hartkäsen soll das Wachstum bis zum Salzausgleich andauern. Nach TAKAHASHI und JOHNS (1959) ist die Vermehrung von *S. aureus* in Cheddar mit Ende des Nachwärmens bereits abgeschlossen. Zu beachten ist, daß sich sämtliche zitierten Berichte zur Entwicklung von Staphylokokken während der Käseproduktion auf Versuche mit künstlicher Kontamination der Kesselmilch beziehen. WALKER et al. (1961) weisen darauf hin, daß bei natürlicher Kontamination, z. B. durch Mastitiserreger bei Rohmilchverkäsung, die Wachstums- und Überlebensbedingungen aufgrund besserer Adaption günstiger sein können.

Während der Reifung bzw. Lagerung von Hart- und Schnittkäse scheint keine Vermehrung der Staphylokokken mehr stattzufinden. So registrierten WALKER et al. (1961) nach 4 Monaten noch 0,07 - 1,7 % der Werte des 1. Tages in Colby und ZOTTOLA et al. (1969) geben an, daß in 80 % der von ihnen untersuchten Käse nach 3 Monaten die Keimzahl an *S. aureus* unter 10^2 /g und in 99 % unter 10^3 /g lag. ROUGHLEY und McLEOD (1961) fanden eine kontinuierliche Reduktion von *S. aureus* in Cheddar und konnten in keinem Fall *S. aureus* länger als 70 Tage lang nachweisen.

Nach Angabe von NAGUIB et al. (1979 b) sank *S. aureus* bei einer Kontamination der Milch mit 10^4 /ml zwischen dem 32. und 38. Tag in Ras-Käse unter die Nachweisgrenze. KEOGH (1971) empfiehlt die Untersuchung von Käse auf Staphylokokken vor Ende der 3. Reifungswoche, um ihrem Absterben zuvorzukommen. Im Gegensatz dazu berichten THOMPSON und MARTH (1974), daß in Parmesan die Staphylokokkenzahl für 7 Monate konstant blieb und erst danach abzufallen begann. TUCKEY et al. (1964) bestätigen zwar die Reduktion der Keimzahl für Hart- und Schnittkäse mit zunehmendem Alter, konnten aber ein völliges Verschwinden im Lauf ihrer Untersuchungen nicht feststellen.

Anders scheinen die Verhältnisse im Camembert zu liegen, wo aufgrund einer anderen Säuerungsentwicklung (LÜBENAU-NESTLE und MAIR-WALDBURG, 1968) bei erhöhten Lagertemperaturen (ab 15°C) auch nach der Produktion eine Vermehrung von *S. aureus* möglich sein soll. SOMM (1970) beobachtete, daß auch bei einer niedrigen Ausgangskontamination nach 3 Wochen Keimzahlen von 10^7 /g erreicht werden können. In Colby und Cheddar resultierte eine von $7,2^{\circ}\text{C}$ auf $12,7^{\circ}\text{C}$ erhöhte Lagertemperatur in einer rascheren Reduktion (TUCKEY et al., 1964).

Abweichungen von dem oben beschriebenen Entwicklungsgang ergeben sich beim Auftreten von Störungen im Säuerungsverlauf (s. 2.2.3.1). So kann eine mangelhafte oder verzögerte Säuerung dazu führen, daß *S. aureus* sich zu höheren Keimzahlen entwickelt (IBRAHIM, 1977) oder sich seine Reduktion im Verlauf der Reifung bzw. Lagerung verlangsamt (McLEOD et al., 1962) und daß, falls Enterotoxinbildner vorliegen, die Bedingungen für die Toxinproduktion besser werden (REISER und WEISS, 1969; SCHEUSNER et al., 1973; TATINI, 1973; ZEHREN und ZEHREN, 1968). Je früher im Produktionsverlauf ein Säuerungsfehler auftritt, desto günstiger wird sich dies auf die Staphylokokken auswirken (PETRUSCHINA und SAWJENKOWA, 1981; TATINI et al., 1971).

Obwohl Milch und Milchprodukte allgemein als die sichersten Lebensmittel tierischer Herkunft gelten (OLSON, 1980; TOLLE, 1979), ist Käse innerhalb dieser Produktgruppe am häufigsten in Ausbrüche von Staphylokokkenintoxikationen involviert (TATINI et al., 1973). Nach Angaben von VAN SCHOUWENBURG-VAN FOEKEN

et al., 1979) wird die für die Auslösung einer Erkrankung notwendige Dosis Enterotoxin A (ca. 1 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) in Gouda ab Keimzahlen von $10^8/\text{g}$ erreicht. Für Colby und Cheddar nennen TATINI et al. (1971) 10^7 *S. aureus*/g.

Zur Kontrolle dieses Risikos sind von verschiedenen Seiten Grenzwerte vorgeschlagen worden. So gilt in der Schweiz ein genußfertiges, nicht getrocknetes Lebensmittel dann als gesundheitsgefährdend, verdorben oder unbrauchbar, wenn eine Keimzahl an *S. aureus* von über $10^4/\text{g}$ nachgewiesen wird (Verordnung über die hygienisch-mikrobiologischen Anforderungen an Lebensmittel, Gebrauchs- und Verbrauchsgegenstände vom 14. Sept. 1981). Der Tatsache Rechnung tragend, daß ein fehlender Nachweis Koagulase-positiver Staphylokokken ein Vorliegen von Toxin nicht ausschließt, setzt dieselbe Verordnung für sämtliche Produkte den Grenzwert für Enterotoxin A auf 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ und für Enterotoxin B auf 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ fest.

Die International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) hat bereits 1974 für die Beurteilung von Hart- und Schnittkäse einen Dreiklassenplan für Koagulase-positive Staphylokokken vorgeschlagen (ICMSF, 1974). Demnach sollen von 5 zufällig zu ziehenden Proben einer Charge nicht mehr als eine den unteren Grenzwert von $10^3/\text{g}$ und keine den oberen von $10^4/\text{g}$ überschreiten ($n = 5$, $c = 1$, $m = 10^3$, $M = 10^4$).

Aus dem kanadischen Gesundheitsministerium stammt ein Dreiklassenplan, der sämtliche Käsesorten, auch Weichkäse, umfaßt und damit auf die käsegruppenspezifischen Unterschiede keine Rücksicht nimmt. Unterschieden wird nur zwischen Käsen aus pasteurisierter Milch einerseits und solchen aus Roh- bzw. wärmebehandelter Milch (heat treated) andererseits (COLLINS-THOMPSON et al., 1977). Für Käse aus pasteurisierter Milch gilt, daß von 5 Proben einer Charge nicht mehr als 2 den unteren Grenzwert von 10^2 *S. aureus*/g und keine den oberen von $10^3/\text{g}$ überschreiten darf ($n = 5$, $c = 2$, $m = 10^2$, $M = 10^3$). Bei Käse aus Roh- bzw. "heat treated" Milch wird der untere Grenzwert auf $10^3/\text{g}$, der obere auf $10^4/\text{g}$ erweitert ($n = 5$, $c = 2$, $m = 10^3$, $M = 10^4$).

2.3.6 Anaerobe Sporenbildner

Anaerobe Sporenbildner (Clostridien) sind ubiquitär verbreitete Keime, die regelmäßig aus Erdproben sowie menschlichen und tierischen Kotproben isoliert werden können (BRYAN, 1972; HALL und HAUSER, 1966; HILDEBRANDT und KATSARAS, 1981). Der Gehalt der Rohmilch an anaeroben Sporenbildnern ist besonders in Zeiten der Silagefütterung hoch (STADHOUDERS et al., 1982; WINTERER, 1972). Ebenso wie die Bacillusarten gehören sie zu denjenigen Keimen, deren Dauerformen die Pasteurisierung überleben (s. 2.2.1). Für *Clostridium perfringens* Typ A, den Vertreter mit der größten lebensmittelhygienischen Bedeutung, wird zwischen hitzeresistenten und hitzelabilen Sporen unterschieden, wobei letztere allerdings die üblichen Pasteurisierungsverfahren ebenfalls überstehen. *Cl. perfringens* zeigt eine stammspezifische, geringe Versporungstendenz, die in saurem Milieu am geringsten ist (HALLMANN und BURKHARDT, 1974; UNTERMANN, 1974). Durch das sog. "Hitzeschockphänomen" kann es nach subletaler Wärmebehandlung (z. B. 80 °C/10 min) zu einer gesteigerten Auskeimungsrate und einer fort-dauernden Erhöhung der Sporulierungstendenz kommen (alle Angaben soweit nicht anders vermerkt bei HILDEBRANDT und KATSARAS, 1981).

In der Literatur finden sich nur wenige Angaben zum Vorkommen von anaeroben Sporenbildnern in Käse. EL-BASSIONY (1980) registrierte in 163 Proben ägyptischer Käse eine Kontamination mit *Cl. perfringens* von ca. 20 - 30 % mit Keimzahlen bis zu 170/g. Hartkäse wies dabei eine geringere Kontaminationsrate und niedrigere Keimzahlen auf als Salzlakenkäse. KORHONEN et al. (1977) geben für finnischen Emmentaler eine Kontaminationsrate für Clostridien von 50 % an. Die Sporenzahlen lagen zwischen 50 und 5×10^5 /g. Insgesamt konnten sie 46 Stämme isolieren, vor allem *Cl. tyrobutyricum*, *Cl. sporogenes*, *Cl. bifementans* und *Cl. butyricum*. *Cl. perfringens* war nicht nachzuweisen. OTTE (1976) untersuchte verschiedene Milchprodukte auf Sporen sulfitreduzierender Clostridien und gibt dabei für Schnittkäse (53 %) und Schmelzkäse (58 %) die höchsten Kontaminationsraten an. In Hartkäsen (25 %) und in Weichkäsen (17 %) lag die Nachweisrate

etwas niedriger (zum Vergleich: Rohmilch und Säuglingsnahrung 17 % bzw. Trockenmilch 42 %). MEHRAN et al. (1975) wiesen in iranischem weißen Käse *Cl. perfringens* nur gelegentlich nach.

Zur Keimzahlentwicklung anaerober Sporenbildner in Käse konnten keine Angaben gefunden werden.

Zwei Vertreter der anaeroben Sporenbildner, *Cl. tyrobutyricum* und *Cl. sporogenes*, gelten im milchwirtschaftlichen Bereich als technologische Schadkeime, die im Käse Textur- und Geschmacksfehler auslösen können (STADHOUDERS et al., 1982). *Cl. tyrobutyricum* hat als Erreger der Spätblähung (KUNDRAT, 1971) für die Hart- und Schnittkäseerei besondere Bedeutung. Die Zugabe von Nitrat zur Käsereimilch (s. 2.1) und das Verbot der Verfütterung von Silagen in Emmentalerkäseereigeieten dienen als prophylaktische Maßnahmen.

Als wichtigste pathogene Mitglieder der Keimgruppe gelten *Cl. perfringens* und *Cl. botulinum*. Vor allem der erstgenannte Erreger ist nach Staphylokokken und Salmonellen in Statistiken über Lebensmittelvergiftungen meist an dritter Stelle zu finden. Bei *Cl. perfringens* geht man davon aus, daß ca. 10^8 Keime/g Lebensmittel vorliegen müssen (BRYAN, 1969 b), um eine Krankheit auszulösen. Die Krankheitssymptome entstehen nach Freisetzung eines Enterotoxins bei der Lysis des Sporangiums im Dünndarm (UNTERMANN, 1974). Dieser Bedeutung als Lebensmittelvergifter Rechnung tragend, wurde in der Schweiz ein Grenzwert von 10^4 /g in genußfertigen Lebensmitteln vorgeschrieben (Verordnung über die hygienisch-mikrobiologischen Anforderungen an Lebensmittel, Gebrauchs- und Verbrauchsgegenstände vom 14. Sept. 1981).

GILLES et al. (1974) führen 2 Ausbrüche von Botulismus auf den Genuß von Käse (Brie) zurück. Allerdings nehmen die Autoren nicht an, daß die Toxine bei der Vermehrung von *Cl. botulinum* im Käse gebildet wurden, zumal bakteriologische Untersuchungen keine Hinweise auf das Vorliegen des Keimes im Lebensmittel erbrachten. Vielmehr wird vermutet, daß Stroh, auf dem die Käse gelagert wurden, die Toxine enthielt.

2.3.7 Enterobacteriaceae und coliforme Keime

Bei der heute für viele Käsesorten üblichen Pasteurisierung der Käsereimilch (MAIR-WALDBURG, 1974) ist nicht mit einem Überleben von Enterobacteriaceae zu rechnen (ASPERGER, 1974; JONES et al., 1967; SINGH und RANGANATHAN, 1980; TOLLE et al., 1971). Da andererseits nach Ergebnissen von COLLINS-THOMPSON et al. (1977) (s. Tab. 7 und 8) der Coliformengehalt von konsumreifem Cheddar durch die einmalige Pasteurisierung der Anlieferungsmilch nicht zu beeinflussen ist, handelt es sich auch bei dieser Keimgruppe i. d. R. um Rekontaminanten. Dementsprechend richten sich die Bemühungen, ihre Zahl im Käse zu senken, vor allem auf die Entdeckung von Rekontaminationsquellen und deren Sanierung. Aus Untersuchungen von BRANDL (1984) und BUSSE (1980, 1981) (s. 2.2.2) geht hervor, daß die Rekontamination auch in Betrieben, die hygienisch einwandfrei arbeiten, unmittelbar nach der Pasteurisierung einsetzt. In einer Untersuchung von LOANE et al. (1977) wurde während der Produktion von australischem Cheddar der Einfluß des Kontaminationszeitpunktes und der Inokulationsmenge auf die Entwicklung der Coliformen und ihrer Keimzahl im Käse nach 4 Wochen Reifung überprüft. Als kritisch erweist sich jede Kontamination vor der Labgerinnung. Zu einem späteren Zeitpunkt, z. B. während der Bearbeitung oder dem Trocknen des Bruches, sind um ca. 1 - 3 Zehnerpotenzen höhere Inokula nötig, um ähnliche Keimzahlen in 4 Wochen altem Käse zu erhalten wie nach einer Frühkontamination. DOMMETT (1970) sieht die entscheidende Kontaminationsquelle für Cheddar ebenfalls vor dem Einlaben. Auch in der Camembertkäserei hält BUSSE (1980, 1981) die Frühkontamination in Vorreifungstanks und Kesselmilch für besonders problematisch und empfiehlt verstärkte Bemühungen zur Rekontaminationsminimierung an dieser Stelle. Als Anhaltspunkt gilt nach BUSSE (1981), daß zwischen Milch, Bruch und Käse jeweils mit einer Verzehnfachung der Coliformenzahl gerechnet werden muß.

Die Tab. 6 - 8 geben einen Überblick zum Vorkommen von Enterobacteriaceae, coliformen Keimen und "fäkalen" coliformen Keimen bzw. E. coli in verschiedenen Käsesorten.

Tabelle 6: Vorkommen von Enterobacteriaceae in Käse (nach Literaturangaben)

Autor(en)	Käsesorte	Anzahl der Proben	Alter der Käse	Vorkommen %	Keimzahlen/g
BECK und MANTEL (1974)	Camembert u. Brie (einschl. Rinde)	119	-	43,7% >	10^6
GAYA et al. (1983)	Schafskäse (aus Rohmilch)	7	60 Tg.	-	$6,0 \times 10^3$
LÜCK und DUNKELD (1981)	Cheddar u. Gouda	130	4-8 Wo.	47% >	$1,5 \times 10^3$
OTTE (1976)	Weichkäse	12	Reifung	91,7%	$1,0 \times 10^7$
	Schnittkäse	15	abgeschlossen	46,7%	$2,0 \times 10^6$
	Hartkäse	12		16,7%	$6,0 \times 10^5$
	Schmelzkäse	12	Handelskäse	kein Nachweis	-

Tabelle 7: Vorkommen von coliformen Keimen in Käse (nach Literaturangaben)

Autor(en)	Käsesorte	Anzahl der Proben	Alter der Käse	Vorkommen %	Keimzahlen/g
ASPERGER et al. (1983)	Mozzarella (außen)	2196	Produktions- ende	14,3%	-
BUSSE (1980)	Camembert	-	7 Tg.	-	2,0·10 ⁵
COLLINS-THOMPSON et al. (1977)	Cheddar (aus past. Milch)	150	Reifung abgeschlossen	60,7% ≤ 100/g < 18%	≤ 1600/g < 23,3%
	Cheddar (aus unpast. Milch)	150		47,3% ≤ 100/g < 30,7%	≤ 1600/g < 22%
	feste Schnittkäse	102		76,5% ≤ 100/g < 23,5%	≤ 1600/g
	halbfeste Schnittkäse	227		75,8% ≤ 100/g < 10,6%	≤ 1600/g < 13,6%
	Weichkäse	188		69,7% ≤ 100/g < 12,2%	≤ 1600/g < 18,1%
DOMMETT (1970)	Camembert	32	-	65,6% ≤ 100/g < 25%	≤ 1600/g < 9,4%
	Cheddar	-		48,2%	-
	verschiedene	-		15% > 1500/g	-
	Damietta-Käse	30		-	9,3·10 ⁴
	Schafskäse (aus Rohmilch)	7		-	4,0·10 ³
LÜCK und DUNKELD (1981)	Cheddar u. Gouda	130	4-8 Mo.	43% > 10 ³	-
	Cheddar	-	2-3 Mo.	97%	-
	Cottage-Käse	45	-	11,1%	-
	Weichkäse	24	-	12,5%	-
	Weichkäse	107	-	1,7% ≤ 10 ² /g < 65,8%	≤ 10 ⁵ /g < 32,5%
THOMPSON und MARTIN (1974)	Parmesan	-	Produktions- ende	-	10 ⁴
WILLIS et al. (1982)	Bonbel	-	3 Mo.	-	8,7

Tabelle 8: Vorkommen von "fäkalen Coliformen", E. coli und enteropathogenen E. coli in Käse (nach Literaturangaben)

Autor(en)	Käsesorte	Anzahl der Proben	Alter der Käse	Vorkommen % Keimzahlen/g	Bezeichnung
ASPERGER et al. (1983)	Mozzarella	61	Handelskäse	23%	"fäkalen" Coliforme
BUSSE (1980)	Camembert	150	7 Tg.	-	"
COLLINS-THOMPSON et al. (1977)	Cheddar (aus past. Milch)	150	Reifung abgeschlossen	$71,3\% \leq 100/g < 5,3\% \leq 1600/g < 23,3\%$	"
	Cheddar (aus unpast. Milch)	150		$68,7\% \leq 100/g < 12,7\% \leq 1600/g < 18,7\%$	"
	halbfeste Schnittkäse	191		$98\% \leq 100/g$	"
FAHMY und YOUSSEF (1974)	Weichkäse	188	Handelskäse	$95,2\% \leq 100/g$	"
	Damietta-Käse	30		42,2%	"
	Weichkäse	ca. 2000	Reifung	ca. 10%	enteropathogene E. coli
	Weich- und Schnittkäse	106	abgeschlossen	$57,3\% \leq 100/g$ und $17\% \leq 10^4/g$	"fäkalen Coliforme"
	Schafskäse (aus Rohmilch)	7	60 Tg.	-	"
GLATZ und BRUDVIG (1980)	verschiedene	78	Handelskäse	$4,3 \times 10^2$	E. coli*
	Cheddar	-	2-3 Wo.	-	E. coli
	Gouda	24	4-8 Wo.	-	"fäkalen Coliforme"
	Hartkäse	12	Reifung abgeschlossen	$6,0 \times 10^5$	E. coli
	Weichkäse	107	-	$25,6\% \leq 10^2/g < 41,9\% \leq 10^4/g < 32,5\%$	"fäkalen Coliforme"

Anmerkung: *darunter keine enteropathogenen E. coli

Eine Rekontamination der Kesselmilch mit Coliformen führt aufgrund der guten Vermehrungsbedingungen beim Herstellungsprozeß der meisten Käse zu nachweisbaren Mengen im fertigen Produkt (BUSSE, 1981; LOANE et al., 1977; MOURGUES et al., 1977; YALE, 1943). Die Keimzahlerhöhungen reichen dabei von einer Zehnerpotenz (FRYER, 1974 für Coliforme in Gouda) bis zu drei Zehnerpotenzen (FRANK et al., 1978 für enteropathogene *E. coli* in Brick) und liegen damit deutlich höher als die für *S. aureus* angegebenen Werte (s. 2.3.5). Die Vermehrungsrate während der Produktion wird meist mit ca. zwei Zehnerpotenzen angegeben. So beispielsweise bei YALE (1943) für Cheddar, bei WILLIS et al. (1982) für Bonbel, bei GINZINGER und OSL (1983) sowie bei WINTERER (1976) für Schnittkäse und bei BUSSE (1981) sowie bei TOLLE et al. (1981) für Camembert. Nur FRYER (1974) beobachtete eine Steigerung in Gouda um nur eine Zehnerpotenz. Für *E. coli* können die Werte in Camembert ebenfalls um zwei Zehnerpotenzen (FRANK et al., 1977) bzw. in Colby um zwei bis drei Zehnerpotenzen (KORNACKI und MARTH, 1982 a) ansteigen.

FRANK et al. (1978) beschreiben bei Brick einen Anstieg enteropathogener *E. coli* um zwei bis drei Zehnerpotenzen.

Angaben zum Zeitpunkt der günstigsten Vermehrungsbedingungen für coliforme Keime bei der Käseherstellung schließen meist die ganze Produktionsdauer mit ein (BRANDL, 1979; BUSSE, 1981; FRANK et al., 1978; GINZINGER und OSL, 1983; THOMPSON und MARTH, 1974; WILLIS et al., 1982; WINTERER, 1976). Bei detaillierten Untersuchungen ermitteln andere Autoren den maximalen Keimzahlanstieg während der Dicklegung der Milch und der Bruchbereitung (FRANK et al., 1977; KORNACKI und MARTH, 1982 a; PARK et al., 1973; TOLLE et al., 1981; YALE, 1943).

Limitierend auf die Entwicklung der Coliformen wirkt sich vor allem der pH-Wert-Verlauf aus (FRYER, 1974; PARK et al., 1973; WINTERER, 1976). Eine zügige Milchsäuregärung und damit verbunden ein schnelles Erreichen des für die jeweilige Käsesorte typischen minimalen pH-Wertes von z. B. 5,1 - 5,25 für Gouda (FRYER, 1974; KAMMERLEHNER, 1970) bzw. 4,7 für Camembert (PARK et al., 1973; SOMM, 1970) hält die Coliformenvermehrung in den oben genannten Grenzen.

Während der Reifung bzw. Lagerung von Hart- und Schnittkäse findet anscheinend kein Wachstum mehr statt. Im allgemeinen wird eine langsame Reduktion bis zur Konsumreife beobachtet (GINZINGER und OSL, 1983; KORNACKI und MARTH, 1982 a; WILLIS et al., 1982; WINTERER, 1976). Zur maximalen Überlebenszeit fanden sich die folgenden Daten: Nach FRYER (1976) sinkt die Zahl der Coliformen im Gouda innerhalb von 6 Monaten unter 1/g, wenn die Rekontamination nicht zu massiv war und Werte von 10^5 /g am ersten Tag nicht überschritten wurden. Nach THOMPSON und MARTH (1974) sind Coliforme bei einem Maximalwert von 10^4 /g 7 Monate nach der Produktion in Parmesan nicht mehr nachweisbar. DOMMETT (1974) konnte nach 3 Monaten keine Coliformen mehr aus Cheddar isolieren, wobei sich die Zeitspanne allerdings proportional zu einer Erhöhung der Ausgangskontamination verlängerte (DOMMETT, 1970). BUCH KRISTENSEN (1970) fand in Danbo nach 45 Tagen keine Coliformen mehr, gibt aber mit maximal 30 Keimen/g einen geringen Kontaminationsgrad seines Untersuchungsgutes an.

Anders sind dagegen die Verhältnisse auf der Oberfläche und in den Randschichten von Brie und Camembert, wo die mit dem Auftreten des Oberflächenschimmels einsetzende Reifung (LÜBENAU-NESTLE und MAIR-WALDBURG, 1968) die pH-Wert-Entwicklung umkehrt und Werte von bis zu 7,4 erreicht werden können (FANTASIA et al., 1975). So ermöglicht der steigende pH-Wert wieder eine Vermehrung der Coliformen (BRANDL et al., 1978; PFLEGER et al., 1978; TOLLE et al., 1981). MOURGUES et al. (1974) beobachteten ein Coliformenmaximum zwischen dem 30. und 50. Tag. Nach FANTASIA et al. (1975) findet auch bei Kühlagerung eine Vermehrung von *E. coli* um bis zu drei Zehnerpotenzen statt. Im Inneren von Camembert stellten FRANK et al. (1977) sowie TOLLE et al. (1981) allerdings ein Verschwinden von *E. coli* nach 2 - 8 Wochen fest, bestätigen aber die geschilderten Verhältnisse in den Randschichten. Auf diese Weise können nach BRANDL et al. (1978) in packreifem Camembert Unterschiede in der Coliformenzahl von bis zu vier Zehnerpotenzen entstehen. Auch in ungereiftem Frischkäse ist eine Vermehrung der Coliformen möglich. So beobachteten ASPERGER et al. (1983) in Mozzarella und SKELTON und HARMON (1964) in Cottage-Käse eine Vermehrung der Coliformen bzw. letztere

auch von *E. coli*, wenn die Lagertemperatur von 4 °C auf 9 - 13 °C anstieg.

Von einigen Autoren wird ein unterschiedliches Verhalten einzelner Enterobacteriaceae-Stämme während der Käseherstellung und Reifung beobachtet. So soll die Vermehrung von *E. coli* während der Camembertproduktion langsamer verlaufen als die der übrigen Coliformen, was erstere bei Verlaufsuntersuchungen später nachweisbar macht (BUSSE, 1980). Nach MOURGUES et al. (1977) stirbt *E. coli* in Weichkäsen auch rascher ab als z. B. *Enterobacter hafniae*. Dagegen beobachteten DOMMETT (1974) bzw. LOANE et al. (1977) in Cheddar ein längeres Überleben von *E. coli* gegenüber anderen Coliformen, und Ergebnissen von GAYA et al. (1983) zufolge wird durch die Verwendung einer Starterkultur bei der Herstellung von Schafskäse aus Rohmilch die Entwicklung von Enterobacteriaceae und Coliformen stärker eingeschränkt als die von *E. coli*.

Auch für die Coliformen gilt, daß Störungen im Säuerungsverlauf (s. 2.2.3.1) ihre Entwicklung während des Herstellungsprozesses begünstigen. Findet zu Beginn der Säuerung keine vollständige Lactosevergärung statt, so sinkt der pH-Wert nicht genügend ab (KAMMERLEHNER, 1970) und außerdem steht Lactose weiterhin den Enterobacteriaceae als Nährsubstrat zur Verfügung (STADHOUDERS, 1975). Die Folge kann deren stärkere Vermehrung und ihr längeres Überleben auf erhöhtem Keimzahlniveau während der Reifung sein (FRANK et al., 1977; GAYA et al., 1983; KORNACKI und MARTH, 1982 a; PARK et al., 1970; PARK et al., 1973; RASH und KOSIKOWSKY, 1982). FRYER (1974, 1976) und WINTERER (1976) machen allerdings hierfür nicht die unvollständige pH-Wert-Senkung, sondern das verzögerte Erreichen eines minimalen pH-Wertes verantwortlich. Bereits eine Verzögerung um 2 Stunden bis zum Erreichen von pH 5,4 soll eine um das Zehnfache höhere Coliformenzahl zur Folge haben (FRYER, 1974).

Lebensmittelhygienische Bedeutung kommt den Enterobacteriaceae in mehrerlei Hinsicht zu. So sind unter anderem *E. coli* und *Enterobacter aerogenes* an der Frühblähung von Schnitt- und Hartkäse (LÜBENAU-NESTLE und MAIR-WALDBURG, 1968) und Enterobacteriaceae zusammen mit *Pseudomonas fluorescens* an der "Aerobierfäulnis" von Emmentaler (KIELWEIN, 1975) beteiligt. Außerdem umfaßt

die Familie neben fakultativen ("Opportunisten") auch eine Reihe obligater "Lebensmittelvergifter". Als Beispiel sei hier nur auf den Ausbruch einer durch enteroinvasive *E. coli* in Weichkäse bedingten Infektion im Jahre 1971 hingewiesen, über die MARIER et al. (1973) aus den USA berichten. Einzelne Gruppen (Coliforme) oder die Gesamtheit der Enterobacteriaceae besitzen eine Indikatorfunktion für die bei der Herstellung der entsprechenden Lebensmittel aufgewendete Produktionshygiene (MOSSSEL, 1964). Auch scheint das Vorkommen von Enterobacteriaceae in einer definierten Menge Untersuchungsmaterial bei einigen Lebensmitteln einen Hinweis auf das Risiko der gleichzeitigen Anwesenheit von Salmonellen zu geben (Index-Funktion, DRION und MOSSSEL, 1977).

Unter den Vorschlägen für Grenzwerte hat in neuerer Zeit der bereits erwähnte (s. 2.3.5) Vorschlag für die hygienische Beurteilung von Käse der kanadischen Gesundheitsbehörde (COLLINS-THOMPSON et al., 1977) größere Beachtung gefunden. Bei der Untersuchung von Käse aus pasteurisierter Milch sollen von 5 Proben einer Charge nicht mehr als 2 den unteren Grenzwert von 500 Coliformen bzw. 100 "fäkalen" Coliformen/g und keine den oberen von 1500 Coliformen bzw. 500 "fäkalen" Coliformen/g überschreiten ($n = 5$, $c = 2$, $m = 500/100$, $M = 1500/500$). Für Käse aus unpasteurisierter bzw. "heat treated" Milch gilt bei gleichem n und c für Coliforme: $M = 5000/g$, $M = 50000$ und für "fäkale" Coliforme: $m = 500/g$, $M = 1000/g$.

In der schon mehrfach zitierten Schweizerischen Verordnung über die hygienisch-mikrobiologischen Anforderungen an Lebensmittel, Gebrauchs- und Verbrauchsgegenstände vom 14. Sept. 1981 fehlt dagegen eine Angabe für Grenzwerte coliformer und "fäkaler" coliformer Keime in Käse. Gemaßregelt werden nur genußfertige Lebensmittel, in denen *E. coli* in Keimzahlen von über $10^4/g$ enthalten ist. Auch ICMSF (1974) sah sich zum Zeitpunkt der Veröffentlichung seiner Probenpläne mangels verfügbarer Daten noch nicht in der Lage, für Käse detaillierte Grenzwerte anzugeben. Diese Grenzwerte werden z. Z. am häufigsten diskutiert. Auf andere, weniger bekannte, soll hier nicht eingegangen werden.

3. Eigene Untersuchungen

Die eigenen Untersuchungen gliedern sich in zwei Hauptabschnitte:

Im ersten Teil wurden Erhebungen über die bakteriologische und chemische Beschaffenheit von Schnittkäsen durchgeführt. Die Untersuchungen des zweiten Teiles sollten klären, welche Veränderungen die Keimflora in Abhängigkeit von chemischen Parametern im Verlauf der Reifung und Lagerung erfährt.

3.1 Material

Zur Ermittlung des bakteriellen bzw. chemischen Status wurden 42 Schnittkäseproben der Sorten Gouda (30 Proben) und Steppenkäse (12 Proben) untersucht. Das Material stammte aus der Veterinär-Untersuchungsstelle der Bundeswehr im Wehrbereich VI, München vorgelegten Angeboten sowie aus zu Kontrolluntersuchungen angeforderten Lagerbeständen. Bei 29 Käsen handelt es sich um deutsche, bei 4 um dänische Produkte, von 9 Käsen konnte die Herkunft nicht ermittelt werden. Die bei 38 Proben bekannte Lagerungszeit lag zwischen 34 und 274 Tagen (ab Herstellungstag). Zur Durchführung der im zweiten Versuchsabschnitt vorgenommenen Verlaufsuntersuchungen wurden zu bestimmten Zeiten der Herstellung sowie Reifung und Lagerung aus 10 Käselaiben (Steppenkäse) verschiedener Chargen der Produktion einer südostbayerischen Käserei je Laib insgesamt 6 Proben nach folgendem Schema gezogen:

Probe 1: Am Herstellungstag (nach dem Pressen der Käselaibe)

Probe 2: Am 3. Tag (nach dem Herausnehmen aus dem Salzbad)

Probe 3: Am 14. Tag (vor dem Wachsen)

Probe 4: Am 28. Tag (vor dem Verpacken und dem Versand)

Probe 5: Nach 61 - 69 Tagen

Probe 6: Nach 124 - 159 Tagen

Ein Käse stand für die letzte Probenahme (Probe 6) nicht mehr zur Verfügung, so daß nicht, wie ursprünglich beabsichtigt, insgesamt 60, sondern nur 59 Proben untersucht werden konnten. Je 3 Käse gehörten zu Chargen aus dem November 1981 bzw. dem Januar 1982, 4 Käse zu einer Charge aus dem Februar 1982.

Ergänzend zu den oben beschriebenen Materialien wurde von jeder Charge eine Probe der vorgereiften Kesselmilch vom Morgen sowie eine Kesselmilchprobe nach vollständigem Kulturenzusatz und Einlaben vom Vormittag des Produktionstages untersucht.

3.2 Methodik

3.2.1 Entnahme und Vorbereitung der Proben für die bakteriologische Untersuchung

In beiden Versuchsabschnitten wurden unter sterilen Kautelen mit einem Käsebohrer ein Böhrling entnommen (Mindestabstand der Probe zu Wachsschicht oder Trockenrand des Käses 1 cm), zerteilt und 5 g in einen Plastikbeutel eingewogen. Die Bohrlöcher der 10 Käselaibe, die für die Verlaufsuntersuchungen zur Verfügung standen, wurden nach der Probenentnahme durch Ausgießen mit heißem Wachs oder Paraffin wieder verschlossen. Das Homogenisieren des Untersuchungsmaterials erfolgte in 45 ml gepuffertem Peptonwasser (Oxoid CM 509) durch 5-minütige Behandlung mit dem Beutelwalkmischer. Anschließend wurden in gepuffertem Peptonwasser dezimale Verdünnungen angelegt.

3.2.2 Bestimmung der Gesamtkeimzahl

Jeweils 0,1 ml der Anschüttelung und jeder Verdünnungsstufe wurden auf Plate-Count-Agar (Merck Nr. 5463) ausgespatelt. Die Auszählung erfolgte nach 48-stündiger Bebrütung bei 37 °C mit Hilfe eines Gegenlichtzählgerätes.

3.2.3 Bestimmung des Anteils Cytochromoxidase-positiver Keime an der Gesamtkeimzahl

Nach Ermittlung der Gesamtkeimzahl wurden die Agarplatten mit dem Cytochromoxidase-Reagens nach GABY und HADLEY überschichtet und nach einer Reaktionszeit von 2 Minuten die blaugefärbten Kolonien gezählt. Die Herstellung des Reagens erfolgte nach den Vorschriften der Anlage 2 zur Eiprodukteverordnung vom 19.02.1975.

3.2.4 Zählung der Streptokokken der serologischen Gruppe D

Zur Bestimmung des Gehaltes an D-Streptokokken wurden jeweils 0,1 ml der Anschüttelung und der einzelnen Verdünnungsstufen auf Kanamycin-Äsculin-Azid-Agar (KAA) nach MOSSEL et al. (1978) (Merck Nr. 5222) ausgespatelt und 20 Std. bei 37 °C bebrütet. Typische Kolonien mit schwarzem Hof wurden als D-Streptokokken angesehen und gezählt.

Um eventuell geschädigte Keime ebenfalls zu erfassen, wurden nach direkter Beimpfung Anschüttelung und Verdünnungsstufen für insgesamt 2 Std. bei 37 °C "wiederbelebt" und anschließend auf KAA-Agar verimpft. Bebrütung und Auswertung erfolgten wie oben beschrieben.

3.2.5 Zählung von *Bacillus cereus*

0,1 ml der Anschüttelung und der einzelnen Verdünnungsstufen wurden auf Mannit-Eigelb-Phenolrot-Polymyxin-B-Sulfat-Agar (MYP) nach MOSSEL et al. (1967) ausgespatelt und 24 Std. bei 32 °C bebrütet. Zur Absicherung verdächtiger Kolonien standen Medien zur Prüfung auf Gelatineverflüssigung, Hämolyse und Nitratverwertung zur Verfügung (HAUSCHILD et al., 1977).

3.2.6 Zählung Koagulase-positiver Staphylokokken

Die Zählung der Koagulase-positiven Staphylokokken erfolgte mittels der most-probable-number-Technik (MPN). Aus der Anschüttelung und jeder Verdünnungsstufe wurden je 9 ml in 3 parallele, mit jeweils 9 ml Liquid BAIRD-PARKER Medium (VAN DOORNE et al., 1981) gefüllte Röhrchen verbracht, mit Paraffin überschichtet und 48 Std. bei 37 °C bebrütet. Material aus Röhrchen, in denen das Medium durch Telluritreduktion nach der Bebrütung geschwärzt war, wurde auf BAIRD-PARKER Agar überimpft (1 Öse Material) und weitere 24 Std. bei 37 °C inkubiert. Von Platten, die Wachstum grauer oder schwarzer Kolonien aufwiesen, wurden jeweils mehrere Kolonien dem Katalase- und dem Klumpungstest unterzogen. Aus der Zahl der in diesen Tests positiven Ansätze wurde mit Hilfe einer MPN-Tabelle (Standard FIL-IDF 73: 1974 des Internationalen Milchwirtschaftsverbandes) die höchstwahrscheinliche Keimzahl berechnet.

3.2.7 Zählung der anaeroben Sporenbildner

Die Bestimmung der höchstwahrscheinlichen Keimzahl (MPN) an anaeroben Sporenbildnern erfolgt analog dem unter 3.2.6 für Koagulase-positive Staphylokokken geschilderten Verfahren, unter Verwendung der Clostridien-Differential-Bouillon nach GIBBS und FREAME (1965) (Merck Nr. 11699) mit Zusatz von 70 I.E. Polymyxin-B-Sulfat/ml (Fa. Pfizer). Der beimpfte Nährboden wurde mit Paraffin überschichtet, 30 Minuten auf 75 °C erhitzt und 7 Tage bei 37 °C bebrütet. Isolate aus Röhrchen, deren Inhalt durch Eisensulfidbildung geschwärzt war, wurden auf Hämolyse, Eigelbreaktion, Nitrat- und Mannitverwertung, Lactosefermentation, Gelatineverflüssigung und Beweglichkeit geprüft (HILDEBRANDT und KATSARAS, 1981).

3.2.8 Zählung der Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae-Anreicherungsbouillon (E. E. BROTH) nach MOSSEL et al. (1963)

(Merck Nr. 5394) wurde im MPN-Verfahren (s. 3.2.6) mit dem Untersuchungsmaterial beschickt, 24 Std. bei 37 °C bebrütet, auf Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glucose-Agar (VRBD-Agar) nach MOSSEL et al. (1962) (Merck Nr. 10275) ausgestrichen (1 Öse Material) und weitere 24 Std. bei 37 °C inkubiert. Typische Kolonien wurden dem Oxydase-Test (s. 3.3.3) unterzogen, um Cytochromoxidase-positive Keime, die eine ähnliche Reaktion auf dem verwendeten Agar zeigen können wie Enterobacteriaceae, auszuschließen.

3.2.9 Zählung der coliformen Keime bei 44 °C

Die Keimzahl der bei einer Temperatur von 44 °C stoffwechselaktiven Coliformen wurde vergleichend auf 3 Wegen ermittelt. Zunächst erfolgte der Ansatz der Röhrchen mit Brillantgrün-Galle-Lactose-Bouillon (Merck Nr. 5454) und Durham-Röhrchen zum Nachweis der Gasbildung aus Lactose gemäß der unter 3.2.6 beschriebenen MPN-Technik. Nach 48-stündiger Bebrütung bei 44 °C wurde die höchstwahrscheinliche Keimzahl anhand der Gasbildung bestimmt. Um die Beziehung zwischen Gas- und Säurebildung erfassen zu können, wurde außerdem von jedem Röhrchen eine Öse Material auf Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Lactose-Agar (VRB-Agar) (Oxoid CM 107) ausgestrichen und weitere 24 Std. bei 44 °C bebrütet. Den Abschluß dieser Versuchsreihe stellte die Prüfung der Isolate auf Indolbildungsvermögen bei 44 °C dar.

Da die Vermutung geäußert wurde, durch direkte Beimpfung von VRB-Agar wesentlich höhere Coliformenzahlen in Schnittkäse zu erhalten als mit der Titerbestimmung in Brillantgrün-Galle-Lactose-Bouillon, wurde bei einigen Proben dieses Verfahren parallel zu den oben geschilderten durchgeführt. (Bebrütung 48 Std./44 °C).

3.2.10 Entnahme der Proben für die chemische Untersuchung

Dem Labor, in welchem die chemische Untersuchung jeweils durchgeführt wurde

(Wehr-Pharmazeutisches Institut der Bundeswehr im Wehrbereich VI, München bzw. Betriebslabor der Käserei für die jeweils ersten 4 Untersuchungen der Verlaufsuntersuchung der 10 Steppenkäseleibe), wurde nach Möglichkeit die restliche Käseprobe nach Entnahme des Böhrlings zur bakteriologischen Untersuchung zur Verfügung gestellt. Bei Proben aus ganzen Käseleiben, die für die Verlaufsuntersuchungen weiter zur Verfügung stehen mußten, wurden mehrere Böhrlinge entnommen, in luftdichte Gefäße verpackt und baldmöglichst ins Labor gebracht. Bei diesen Käseleiben wurden die Bohrlöcher nach der Probenahme mit flüssigem Paraffin ausgegossen oder durch Eintauchen in heißes Wachs (im Herstellungsbetrieb) wieder verschlossen.

3.2.11 Messung des pH-Wertes

Der pH-Wert wurde mit einem pH-Meter gemessen.

3.2.12 Bestimmung der Trockenmasse

Die Bestimmung der Trockenmasse erfolgte mit der Trockenschränkmethode. Dazu wurde die eingewogene Käseprobe in einer Nickelschale mit Seesand verrieben, 2 Std. bei 105 °C getrocknet und danach zurückgewogen.

3.2.13 Bestimmung des Fettgehaltes in der Trockenmasse

Die Bestimmung des Fettgehaltes wurde mit der Methode nach GERBER (1963) durchgeführt.

3.2.14 Bestimmung des Kochsalzgehaltes

Der Kochsalzgehalt wurde mit Hilfe der potentiometrischen Titration nach dem rechnerischen Interpolationsverfahren von HAHN und WEILER (1926) bestimmt (Schweizerisches Lebensmittelbuch, 1964).

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Erhebungen zur bakteriologischen und chemischen Beschaffenheit von Schnittkäse der Sorten Gouda und Steppenkäse

3.3.1.1 Gesamtkeimzahl

Bei insgesamt 38 Proben wurde eine Gesamtkeimzahlbestimmung durchgeführt. Die Zahlen lagen in einem Bereich von 10^3 bis $2,4 \times 10^8$ Keimen/g. 18 Proben (47 %) enthielten zwischen 10^5 und 10^7 , 17 Proben (44 %) zwischen 10^7 und $2,4 \times 10^8$ Keimen/g. Der geometrische Mittelwert sämtlicher Proben betrug $4,05 \times 10^6$ Keime/g Käse.

Bei der Sorte Gouda (26 Proben) lagen die Werte zwischen 10^4 und $1,5 \times 10^8$ Keimen/g Käse (je 1 Probe), wobei 13 Proben (50 %) Keimzahlen im Bereich von 10^5 und 10^6 und 11 Proben (42 %) Keimzahlen zwischen 10^7 und 10^8 Keimen/g aufwiesen. Wie aus Abb. 1 hervorgeht, enthielten 50 % der Goudaproben weniger als 5×10^6 und 96 % weniger als 10^8 Keime/g.

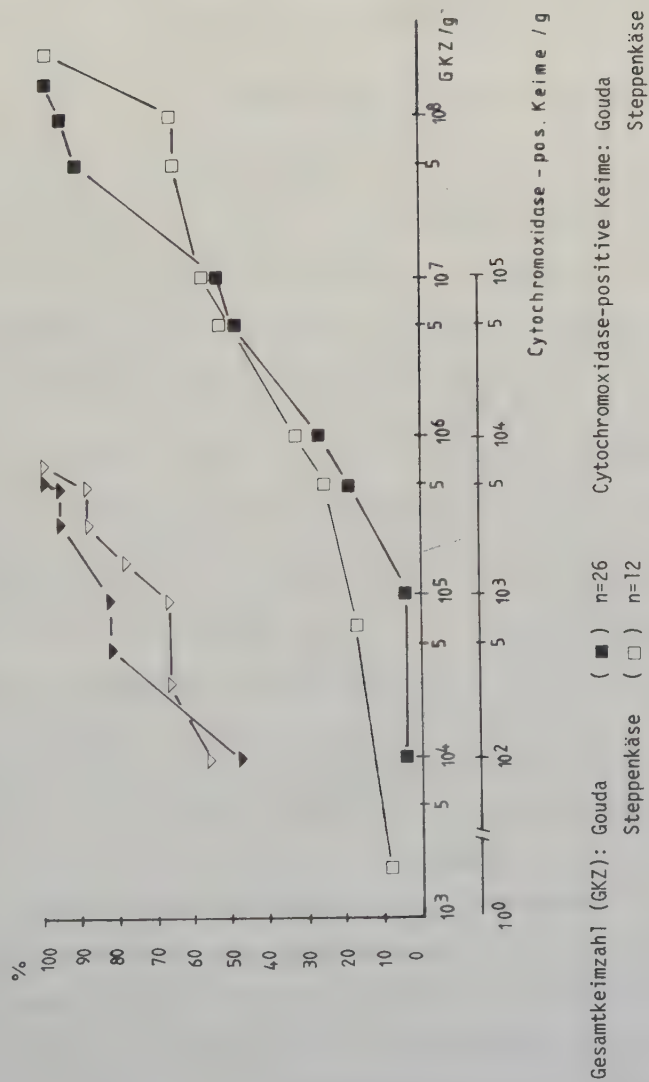
Je 5 (42 %) der 12 Proben der Sorte Steppenkäse wiesen Keimzahlen im Bereich von 10^5 bis 10^7 bzw. 10^7 bis $2,4 \times 10^8$ Keimen/g auf. In einer Probe betrug die Gesamtkeimzahl $2,0 \times 10^3$ und in einer weiteren $6,7 \times 10^4$ Keime/g. 50 % der Steppenkäseproben enthielten weniger als 5×10^6 Keime/g.

3.3.1.2 Cytochromoxidase-positive Keime

Von 32 der einer Gesamtkeimzahlbestimmung unterzogenen Proben wurde der Anteil der Cytochromoxidase-positiven Keime ermittelt. Bei 16 Proben (50 %) verlief diese Untersuchung negativ. 9 Proben (28 %) enthielten 10^2 bis 5×10^2 und 7 Proben (22 %) zwischen 10^3 und 10^4 Cytochromoxidase-positive Keime/g.

Von den 23 untersuchten Gouda (Abb. 1) waren 11 (48 %) negativ, 8 (35 %) lagen im Bereich von 10^2 bis 5×10^2 und 4 (17 %) zwischen 10^3 und $5,5 \times 10^3$

Abbildung 1: Gesamtkeimzahl und Cytochromoxidase-positive Keime in Gouda und Steppenkäse (Summenprozentverteilung)



Gesamtkeimzahl (GKZ): Gouda (■) n=26 Cytochromoxidase-positive Keime: Gouda (▼) n=23
Steppenkeise (□) n=12 Steppenkeise (▽) n=9

Keimen/g. 96 % der Proben enthielten weniger als $3,0 \times 10^3$ Cytochromoxidase-positive Keime/g.

Bei 5 (55,5 %) der 9 Proben der Sorte Steppenkäse verlief die Untersuchung negativ (Abb. 1). Eine Probe lag bei $3,0 \times 10^2$ und 3 (33,3 %) Proben zwischen 10^3 und 10^4 Keimen/g. Wie aus Abb. 1 hervorgeht, fanden sich in 89 % der Proben weniger als 5×10^3 Cytochromoxidase-positive Keime/g.

3.3.1.3 Streptokokken der serologischen Gruppe D

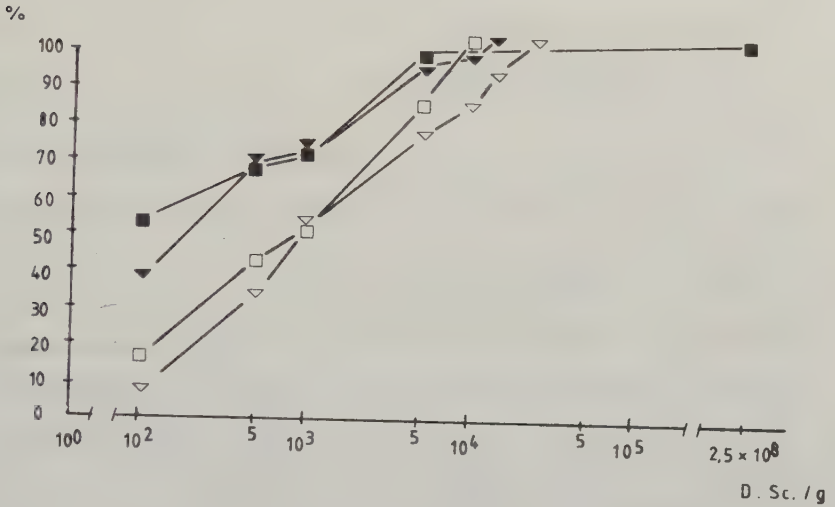
Insgesamt 41 Proben wurden direkt (d. h. ohne vorausgehende Wiederbelebung der Keime in einem nicht selektiven Medium (s. 3.2.4) auf ihren Gehalt an Streptokokken der serologischen Gruppe D untersucht. In 9 (22 %) von 24 (59 %) positiven Proben waren zwischen 10^2 und 10^3 , in 14 (34 %) zwischen 10^3 und 10^4 Keime/g nachweisbar. Ein deutscher Gouda enthielt bei der Untersuchung am 197. Tag nach der Herstellung $2,5 \times 10^8$ Keime/g.

Von 29 Proben der Sorte Gouda waren 15 (52 %) negativ. 5 Proben (17 %) enthielten zwischen 10^2 und 10^3 und 8 Proben (28 %) zwischen 10^3 und 5×10^3 Keime/g. Aus einer Probe konnten $2,5 \times 10^8$ Keime/g isoliert werden (s. o.). Wie aus Abb. 2 ersichtlich, enthielten 97 % der Proben weniger als 5×10^3 Streptokokken der serologischen Gruppe D/g.

Bei der Untersuchung von 12 Käseproben der Sorte Steppenkäse waren 2 Proben (16,5 %) negativ. 4 Proben (33,5 %) enthielten zwischen 10^2 und 10^3 und 6 Proben (50 %) zwischen 10^3 und 10^4 Keimen/g. Wie Abb. 2 zeigt, enthielten 50 % der untersuchten Steppenkäse weniger als 10^3 und 83 % weniger als 5×10^3 Streptokokken der serologischen Gruppe D/g.

Wie unter 3.2.4 beschrieben, wurden nach Wiederbelebung der Keime 39 der 41 Proben nochmals auf den Gehalt an Streptokokken der serologischen Gruppe D untersucht. Hierbei waren in 11 Proben (28 %) keine Keime dieser Gruppe nachweisbar. 14 Proben (36 %) enthielten 10^2 bis 10^3 , 11 Proben (28 %) zwischen 10^3 und 10^4 und 3 Proben (8 %) bis zu 5×10^4 Keime/g.

Abbildung 2: Streptokokken der serologischen Gruppe D in Gouda und Steppenkäse, nachgewiesen mit und ohne Wiederbelebung (Summenprozentverteilung)



ohne Wiederbelebung: Gouda (■) n=29
Steppenkäse (□) n=12
mit Wiederbelebung: Gouda (▼) n=27
Steppenkäse (▽) n=12

Von den 27 untersuchten Gouda waren 10 (37 %) negativ, 9 Proben (33 %) enthielten 10^2 bis 10^3 , 7 Proben (26 %) 10^3 bis 10^4 und eine Probe $1,4 \times 10^4$ Keime/g. Aus Abb. 2 geht hervor, daß nach Wiederbelebung 67 % der untersuchten Goudaproben weniger als 5×10^2 und 96 % weniger als 10^4 Streptokokken der serologischen Gruppe D/g enthielten.

Von den 12 untersuchten Steppenkäsen war eine Probe (8 %) negativ, 5 Proben (42 %) enthielten 10^2 bis 10^3 , 4 Proben (33 %) 10^3 bis 10^4 und je eine Probe $2,5 \times 10^4$ bzw. $1,4 \times 10^4$ Keime/g. Nach Wiederbelebung wiesen 50 % der Proben weniger als 10^3 und 83 % weniger als 10^4 Streptokokken der serologischen Gruppe D/g auf (Abb. 2).

In Tabelle 9 sind die Ergebnisse des D-Streptokokkennachweises mit und ohne Wiederbelebung vergleichend zusammengefaßt. Der Übersichtlichkeit halber wurden die Ergebnisse der unter 3.3.2 geschilderten Verlaufsuntersuchungen miteinbezogen. Es waren somit in 18 (22 %) der 83 Schnittkäse (39 Handelskäseproben und 44 Steppenkäseproben aus den Verlaufsuntersuchungen) mit beiden Methoden keine Streptokokken der serologischen Gruppe D nachweisbar. Bei alleiniger Berücksichtigung der Untersuchung ohne Wiederbelebung betrug die Anzahl negativer Proben 35 (42 %). Bei Zugrundelegung der Ergebnisse nach Wiederbelebung waren in 20 (24 %) Proben keine D-Streptokokken nachweisbar.

Wie aus Zeile 8 der Tabelle 9 ersichtlich, lag bei 26 Proben (31 %) die Keimzahl nach Wiederbelebung über derjenigen ohne Wiederbelebung. Über die Höhe des Anstieges der Keimzahlen gibt folgende Aufschlüsselung Auskunft, wobei die Keimzahl nach Wiederbelebung als das Produkt aus der Keimzahl ohne Wiederbelebung und einem Multiplikationsfaktor x betrachtet wird.

Multiplikationsfaktor x

Höhe	Häufigkeit
$1 < x < 2$	9
$2 \leq x < 3$	3
$3 \leq x < 4$	2
$4 \leq x < 5$	3

Tabelle 9: Bestimmung von D-Streptokokken: Vergleich der Ergebnisse mit und ohne Wiederbelebung

Käsesorte	Gouda	Steppen- käse	Insge- samt
1. Anzahl der untersuchten Proben	27 100 %	56 100 %	83 100 %
2. Negativ mit und ohne Wiederbe- lebung	10 37 %	8 14,3%	18 21,7%
3. Negativ im Direktansatz	14 51,9%	21 37,5%	35 42,2%
4. Negativ nach Wiederbelebung	10 37 %	10 17,9%	20 24,1%
5. Positiv im Direktansatz, negativ nach Wiederbelebung	0 -	2 3,6%	2 2,4%
6. Positiv nach Wiederbelebung, negativ im Direktansatz	4 14,8%	13 23,2%	17 20,5%
7. Positiv, mit und ohne Wiederbelebung	13 48,1%	33 58,9%	48 55,4%
8. Positiv, mit und ohne Wiederbelebung. Keimzahl nach Wiederbelebung höher als Keimzahl im Direktansatz.	6 22,2%	20 35,7%	26 31,3%
9. Positiv, mit und ohne Wiederbelebung. Keimzahl im Direktansatz höher als Keim- zahl nach Wiederbelebung	5 18,5%	8 14,3%	13 15,7%
10. Positiv, mit und ohne Wiederbelebung. Keimzahlen mit beiden Methoden gleich hoch.	2 7,4%	5 8,9%	7 8,4%

Multiplikationsfaktor x

Höhe	Häufigkeit	
$5 \leq x < 6$	2	
$6 \leq x < 7$	3	
$7 \leq x < 8$	3	n = 26
$20 \leq x < 21$	1	

Aus Zeile 9 der Tabelle 9 geht hervor, daß bei 13 Proben (16 %) das Ergebnis ohne Wiederbelebung über dem Ergebnis nach Wiederbelebung lag. Zur Aufschlüsselung dieser Differenz wird die Keimzahl ohne Wiederbelebung als das Produkt aus der Keimzahl nach Wiederbelebung und einem Multiplikationsfaktor x betrachtet; Höhe und Häufigkeit des Multiplikationsfaktors x werden angegeben:

Multiplikationsfaktor x

Höhe	Häufigkeit	
$1 < x < 2$	7	
$2 \leq x < 3$	3	
$3 \leq x < 4$	1	n = 13
$4 \leq x < 5$	1	
$6 \leq x < 7$	1	

3.3.1.4 *Bacillus cereus*

Aus 39 von 40 Proben (28 Gouda und 12 Steppenkäse) konnte *B. cereus* nicht isoliert werden. Ein 35 Tage alter Steppenkäse dänischer Herkunft enthielt 100 *B. cereus*/g.

3.3.1.5 Koagulase-positive Staphylokokken

36 Käseproben wurden auf Koagulase-positive Staphylokokken untersucht. 14 Proben (39 %) waren negativ, 12 Proben enthielten bis zu 10^2 , 6 Proben (17 %) zwischen 10^2 und 10^3 und 3 Proben (8 %) zwischen 10^2 und 5×10^2 Keime/g. In einem Gouda deutscher Herkunft fanden sich $4,5 \times 10^4$ Koagulase-positive Staphylo-

kokken/g (untersucht am 100. Tag nach der Herstellung).

Von 26 Proben der Sorte Gouda waren 10 (38 %) negativ, 11 (42 %) enthielten bis zu 10 und 3 Proben (12 %) zwischen 10 und 50 Keime/g. In einem Gouda fanden sich $2,5 \times 10^2$ und in einem weiteren $4,5 \times 10^4$ Koagulase-positive Staphylokokken/g (s. o.). Aus Abb. 3 geht hervor, daß 92 % der untersuchten Gouda weniger als 50 und 96 % weniger als $2,5 \times 10^2$ Koagulase-positive Staphylokokken/g aufwiesen.

4 (40 %) von 10 Proben der Sorte Steppenkäse waren negativ, eine (10 %) Probe enthielt 9, 3 (30 %) enthielten zwischen 10 und 10^2 Keime/g. In 2 Proben (20 %) konnten bis zu $2,5 \times 10^2$ Keime/g nachgewiesen werden. Somit waren in 80 % der untersuchten Steppenkäseproben weniger als 10^2 Koagulase-positive Staphylokokken/g enthalten (Abb. 3).

Sämtlichen nachgewiesenen Koagulase-positiven Staphylokokken fehlte auf BAIRD-PARKER Agar der Eigelbfaktor.

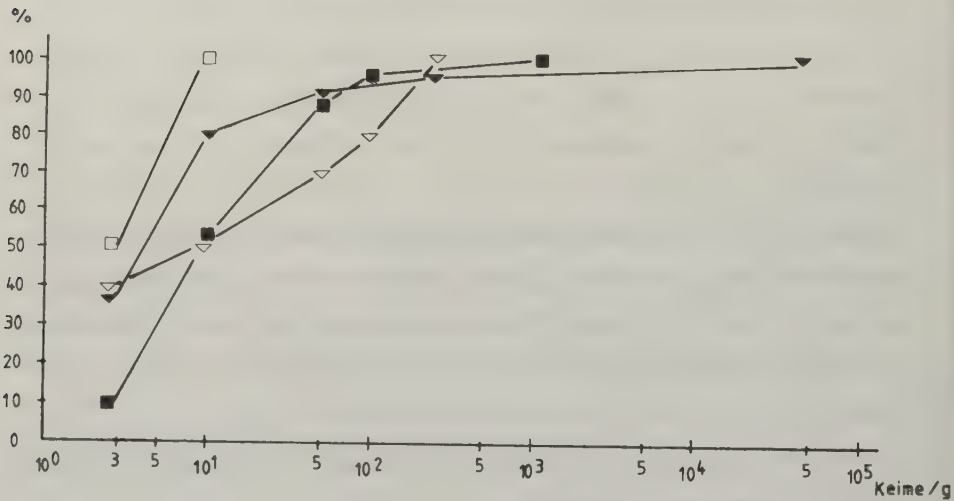
3.3.1.6 Anaerobe Sporenbildner

Von 36 Käseproben, die auf anaerobe Sporenbildner untersucht wurden, waren 7 Proben (19 %) negativ, 17 Proben (47 %) enthielten bis zu 10, 11 Proben (31 %) zwischen 10 und 10^2 und eine Probe eines deutschen Gouda $1,1 \times 10^3$ Keime/g (untersucht am 197. Tag nach der Herstellung). Die gleiche Probe fiel auch durch den im Rahmen dieser Untersuchung außergewöhnlich hohen Gehalt an Streptokokken der serologischen Gruppe D von $2,5 \times 10^8$ /g auf (s. 3.3.1.3).

Aus 2 (8 %) von 26 Proben Gouda konnten anaerobe Sporenbildner nicht isoliert werden. 12 Proben (46 %) enthielten bis zu 10, 9 Proben (35 %) zwischen 10 und 50 und 2 Proben (8 %) zwischen 50 und 10^2 Keime/g. In einer Probe fanden sich $1,1 \times 10^3$ Keime/g (s. o.). Die Summenprozentverteilung (Abb. 3) zeigt, daß 96 % der untersuchten Goudaproben weniger als 10^2 anaerobe Sporenbildner/g enthielten.

Von 10 Proben Steppenkäse waren 5 Proben (50 %) negativ, die übrigen 5 Proben (50 %) enthielten weniger als 10 anaerobe Sporenbildner/g.

Abbildung 3: Koagulase-positive Staphylokokken und anaerobe Sporenbildner in Gouda und Steppenkäse (Summenprozentverteilung)



Koagulase-positive Staphylokokken: Gouda (▼) n=26

Steppenkäse (▽) n=10

Anaerobe Sporenbildner:

Gouda (■) n=26

Steppenkäse (□) n=10

Die weiterführenden Untersuchungen (s. 3.2.7) erbrachten in keinem Fall einen Verdacht für das Vorhandensein von *Cl. perfringens*.

3.3.1.7 Enterobacteriaceae

38 Proben wurden auf Enterobacteriaceae untersucht. Davon waren 12 Proben (32 %) negativ, 4 Proben (11 %) enthielten bis zu 10^1 , 5 Proben (13 %) zwischen 10^1 und 10^2 und weitere 5 Proben (13 %) zwischen 10^2 und 10^3 Keime/g. 6 Proben (16 %) enthielten zwischen 10^3 und 5×10^3 und 5 Proben (13 %) zwischen 10^4 und 5×10^4 Keime/g. In einer Probe eines deutschen Gouda fanden sich am 35. Tag nach der Herstellung $1,1 \times 10^5$ Enterobacteriaceae/g.

Von 28 Gouda waren 11 (39 %) negativ, 4 Proben (14 %) enthielten bis zu 10^1 , weitere 4 Proben (14 %) zwischen 10^1 und 10^2 Enterobacteriaceae/g. 6 Proben (21 %) enthielten zwischen 10^2 und 5×10^3 , 2 Proben (7 %) zwischen 10^4 und 5×10^4 und eine Probe eines deutschen Gouda $1,1 \times 10^5$ Keime/g (s. o.). Wie aus Abb. 4 hervorgeht, waren in 54 % der untersuchten Goudaproben weniger als 10^1 und in 96 % weniger als 5×10^4 Enterobacteriaceae/g enthalten.

Eine der 10 untersuchten Steppenkäseproben war negativ, eine andere enthielt 10^1 und in 3 Proben (30 %) fanden sich zwischen 10^2 und 5×10^2 Keime/g. 2 Proben (20 %) hatten Gehalte zwischen 5×10^2 und 5×10^3 und 3 Proben (30 %) zwischen 10^4 und $1,5 \times 10^4$ Keimen/g. 70 % der untersuchten Steppenkäseproben enthielten unter 5×10^3 Enterobacteriaceae/g (Abb. 4).

3.3.1.8 Coliforme Keime (44 °C)

Wie unter 3.2.9 beschrieben, wurde der Gehalt der Käseproben an Coliformen mit 3 verschiedenen Verfahren ermittelt:

1. Prüfung auf Gasbildungsvermögen aus Lactose bei 44 °C;
2. Abimpfung sämtlicher Röhrchen auf VRB-Agar zur Prüfung der Säurebildung bei 44 °C und Prüfung der Isolate auf Indolbildungsvermögen;

3. direkter Ansatz auf VRB-Agar und Bebrütung bei 44 °C mit anschließender Prüfung der Isolate auf Indolbildungsvermögen.

Von 28 Käseproben, die hinsichtlich der Gasbildung aus Lactose ausgewertet wurden, zeigten 11 Ansätze (39 %) keine Gasbildung. 3 Proben (11 %) enthielten bis 50, 4 Proben (14 %) zwischen 10^2 und 5×10^2 , 7 Proben (25 %) zwischen 5×10^2 und 5×10^3 und 3 Proben (11 %) zwischen 10^4 und 5×10^4 Keime/g.

Bei 9 (45 %) von 20 Proben der Sorte Gouda trat keine Gasbildung auf, 3 Proben (15 %) enthielten bis zu 50 und 4 Proben (20 %) zwischen 10^2 und 10^3 Keime/g. 2 Proben (10 %) wiesen Gehalte zwischen 10^3 und 5×10^3 und weitere 2 Proben solche zwischen 10^4 und 5×10^4 Keimen/g auf. Somit waren in 60 % der untersuchten Goudaproben weniger als 50 und in 90 % weniger als 5×10^3 coliforme Keime/g, die bei 44 °C Gasbildungsvermögen zeigten, enthalten (Abb. 5).

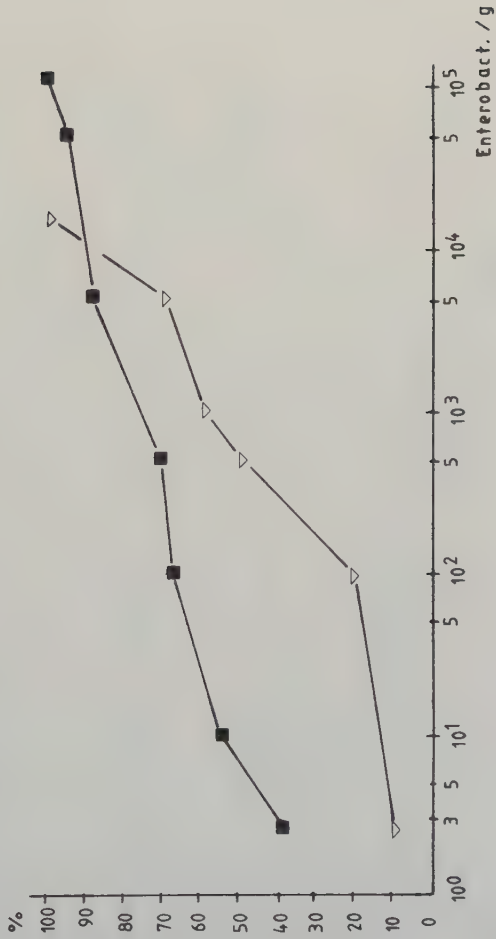
Von 8 Proben der Sorte Steppenkäse zeigten 2 Proben (25 %) keine Gasbildung. Weitere 2 Proben wiesen Keimzahlen im Bereich von 10^2 bis 10^3 und 3 Proben (38 %) im Bereich von 10^3 bis 5×10^3 Keimen/g auf. Eine Probe (13 %) lag bei $1,1 \times 10^4$ Keimen/g. In 50 % der untersuchten Steppenkäseproben waren somit weniger als 10^3 und in 88 % weniger als 5×10^3 coliforme Keime/g enthalten, die bei 44 °C Gasbildungsvermögen zeigten (Abb. 6).

Bei der Prüfung der Isolate auf Säure und Indolbildung bei 44 °C zeigte sich, daß Gas- und Säurebildungsvermögen bei den Kulturen aus jeweils einem Gouda bzw. Steppenkäse nicht übereinstimmten.

Der prozentuale Anteil an positiven Proben bei direktem Ansatz auf VRB-Agar und Bebrütung bei 44 °C zeigte keinen Unterschied zum prozentualen Anteil positiver Proben (Gasbildungsvermögen) in flüssigem Nährboden (jeweils in 61 % positiv). So waren von insgesamt 18 geprüften Käseproben 7 (39 %) negativ. 4 Proben (22 %) enthielten zwischen 10^2 und 10^3 , 5 Proben (28 %) zwischen 10^3 und 10^4 und 2 Proben (11 %) zwischen 10^4 und 5×10^4 Keime/g.

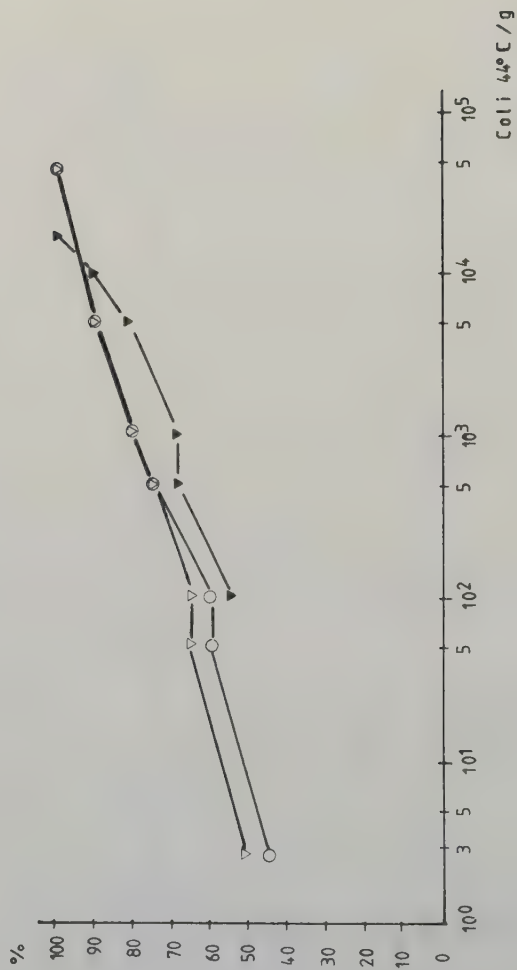
Von 11 untersuchten Gouda waren 6 Proben (55 %) negativ. 3 Proben (29 %) enthielten zwischen 10^2 und 5×10^3 , eine Probe (9 %) $8,4 \times 10^3$ und eine weitere $1,7 \times 10^4$ Keime/g. Aus Abb. 5 geht hervor, daß in 55 % der untersuchten Gouda

Abbildung 4: Enterobacteriaceae in Gouda und Steppenkäse (Summenprozentverteilung)



Gouda (■) n=28
Steppenkäse (▽) n=10

Abbildung 5: Coliforme Keime (44°C) in Gouda (Summenprozentverteilung)



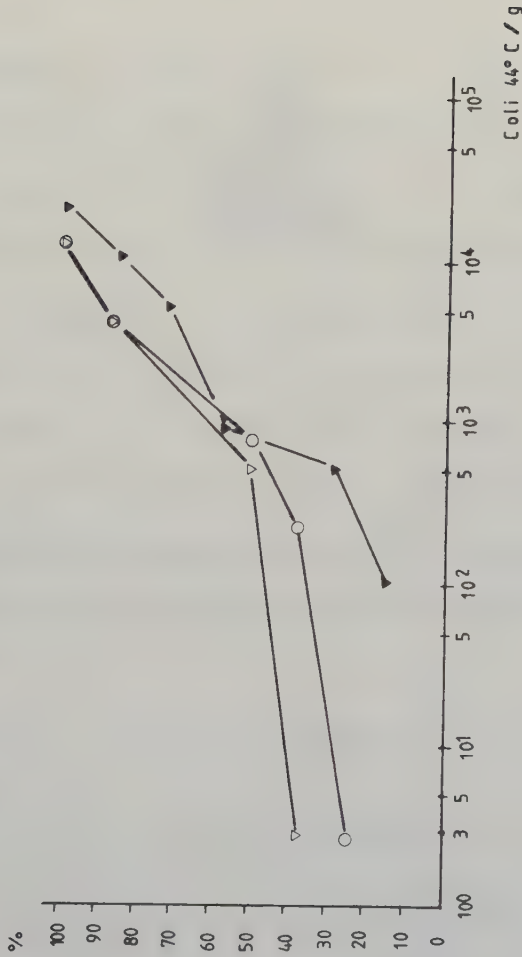
Coli. 44°C (G)* (○) n=20

Coli. 44°C (S)* (▽) n=20

Coli. 44°C (VRB)* (▼) n=11

*s. Anmerkungen zu Tab. 10

Abbildung 6: Coliforme Keime (44°C) in Steppenkeäse (Summenprozentverteilung)



Coli. 44°C (G)* (○) n=8

Coli. 44°C (S)* (▽) n=8

Coli. 44°C (VRB)* (▼) n=7

*s. Anmerkungen zu Tab. 10

keine und in 91 % weniger als 10^4 coliforme Keime/g bei direktem Ansatz nachweisbar waren.

Einer (14 %) der 7 untersuchten Steppenkäse wies keine Coliformen auf. 3 Proben (43 %) enthielten zwischen 10^2 und 10^3 , zwei Proben (29 %) zwischen 10^3 und 10^4 und eine Probe (14 %) $2,0 \times 10^4$ Keime/g. In 14 % der Steppenkäse waren keine und in 86 % weniger als 10^4 coliforme Keime/g bei direktem Ansatz nachweisbar.

Ein Vergleich hinsichtlich der Ergebnisse der Prüfung auf Gasbildungsvermögen aus Lactose bei 44°C und dem direkten Ansatz auf VRB-Agar und Bebrütung bei 44°C ergab folgendes:

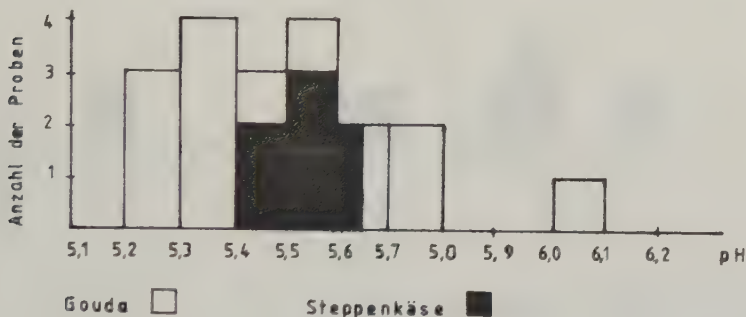
Im direkten Ansatz auf VRB-Agar waren 39 % von 18 Proben negativ, d. h. unter Berücksichtigung des angewandten Verfahrens (s. 3.2.9) lag ihr Gehalt an Coliformen unter 10^2 /g. Ebenfalls 39 % von 28 auf ihr Gasbildungsvermögen untersuchten Proben waren negativ und 50 % blieben unter 10^2 Keimen/g. Das Ergebnis der Untersuchung auf Gasbildung fiel in 9 Untersuchungen (50 %) höher und in 4 (22 %) niedriger aus als dasjenige der Untersuchung mit direktem Ansatz auf VRB-Agar. 5 mal (28 %) war mit beiden Verfahren das Ergebnis negativ. Von den beiden Untersuchungen, deren Ergebnis im direkten Ansatz im Gegensatz zum Gasbildungsvermögen negativ war, betrug die höchstwahrscheinliche Keimzahl aus der Bestimmung des Gasbildungsvermögens einmal 45 und einmal $2,0 \times 10^2$ coliforme Keime/g.

3.3.1.9 pH-Wert

Die pH-Werte von 19 untersuchten Gouda lagen zwischen 5,2 und 6,1. 10 Proben (53 %) hatten pH-Werte von 5,2 bis 5,5 und 8 Proben (42 %) zwischen 5,5 und 5,8. Insgesamt lagen 18 Proben (95 %) im Bereich zwischen 5,2 und 5,8.

Die pH-Werte der 7 untersuchten Steppenkäse lagen im Bereich von 5,4 bis 5,7 (s. Abb. 7)

Abbildung 7: pH-Werte von 26 Gouda- und Steppen

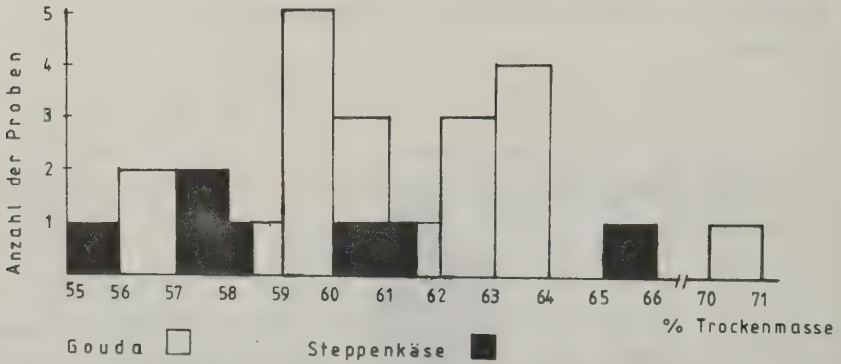


3.3.1.10 Trockenmasse

Der jeweilige Anteil der Trockenmasse von 20 untersuchten Gouda bewegte sich zwischen 56 und 71%. 11 Proben (55%) hatten eine Trockenmasse von 56 - 61% und insgesamt 19 Proben (95%) eine solche von 56 - 64%.

Die Trockenmasse der 7 untersuchten Steppenkäse lag im Bereich von 55 - 66% (s. Abb. 8).

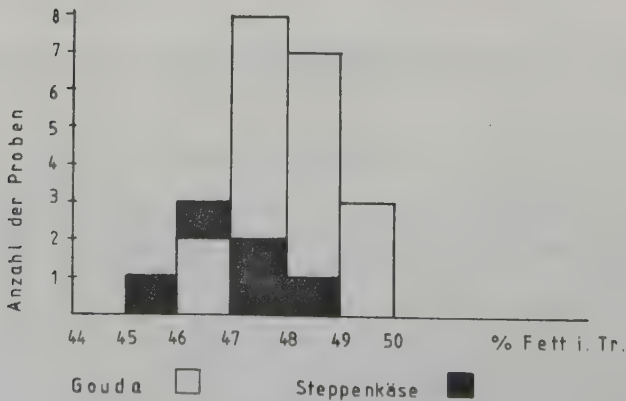
Abbildung 8: Trockenmasse von 27 Gouda- und Steppenkäseproben



3.3.1.11 Fettgehalt in der Trockenmasse

Der Fettgehalt von 20 Gouda lag im Bereich von 46 - 50%. Bei den 7 untersuchten Steppenkäsen bewegte er sich zwischen 45 und 49% (s. Abb. 9).

Abbildung 9: Fettgehalt in der Trockenmasse von 27 Gouda- und Steppenkäseproben.

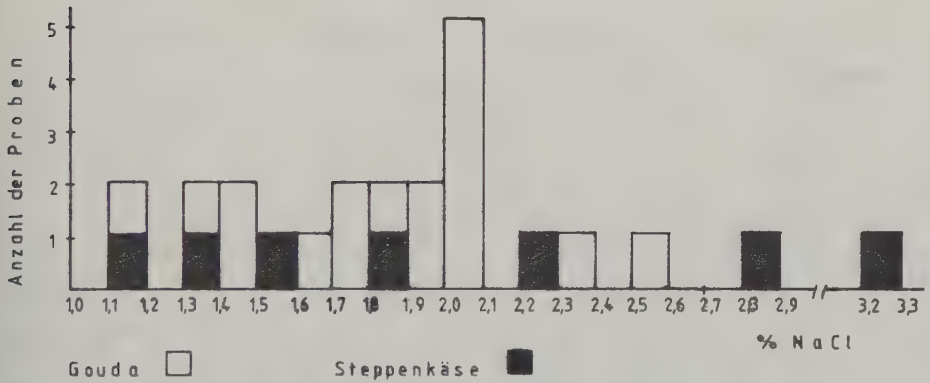


3.3.1.12 Kochsalzgehalt

Der Kochsalzgehalt der 20 untersuchten Gouda lag zwischen 1,1 und 2,6%. 11 Proben (55%) enthielten bis zu 1,9% und insgesamt 19 Proben (95%) bis zu 2,4% NaCl.

Der Kochsalzgehalt der 7 untersuchten Steppenkäse lag im Bereich von 1,1 - 3,3%. 4 Proben (57%) enthielten bis zu 1,9% und insgesamt 6 Proben (86%) bis zu 2,9% NaCl (s. Abb. 10).

Abbildung 10: Kochsalzgehalt von 27 Gouda- und Steppenkäseproben



3.3.2 Untersuchungen zur Veränderung der bakteriologischen und chemischen Beschaffenheit von Steppenkäse im Verlauf von Produktion bzw. Reifung und Lagerung.

Die Ergebnisse der Verlaufsuntersuchungen an 10 Steppenkäseblöcken während Produktion bzw. Reifung und Lagerung sind zusammenfassend in Tab. 10 wiedergegeben. Die Entwicklung der einzelnen Parameter wird in den Abbildungen 11 - 17 graphisch dargestellt. Bei den in diesen Abbildungen dargestellten Keimzahlen handelt es sich jeweils um die auch in Tab. 10 mit $\bar{x}_g$ gekennzeichneten Durchschnittswerte aller 10 Käse, in die negative Ergebnisse eingeschlossen sind. Damit erklärt sich das Absinken einzelner Durchschnittswerte unter die Nachweisgrenze.

Das Ergebnis der Bestimmung von *B. cereus* wird in Tab. 10 nicht erfaßt. Von 59 Untersuchungen verliefen 58 negativ; in Steppenkäse Nr. 5 wurden bei der 4. Probe (s. 3.1) 5×10^2 *B. cereus*/g nachgewiesen.

Tabelle 10: Ergebnisse der Verlaufsuntersuchungen an 10 Steppenkäsen während Produktion bzw. Reifung und Lagerung (Anmerkungen siehe Seite 69)

Untersuchung	1. Probe (Herstellungstag)				2. Probe (3. Tag, nach Salzbad)				3. Probe (14. Tag, vor dem Wachsen)			
	n	min	max	$\bar{x}_g$	n	min	max	$\bar{x}_g$	n	min	max	$\bar{x}_g$
GKZ/g.	10	$2,4 \times 10^7$	$2,2 \times 10^8$	$7,6 \times 10^7$	10	$3,8 \times 10^7$	$4,0 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	10	$2,8 \times 10^7$	$1,9 \times 10^8$	$7,1 \times 10^7$
Cyt. ox.-pos./g	10	$2,7 \times 10^3$	$1,2 \times 10^4$	$6,8 \times 10^3$	10	neg=1	$4,0 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	10	neg=2	$5,0 \times 10^3$	$3,5 \times 10^2$
D.-Sc./g (dt.)	10	neg=3	$8,0 \times 10^2$	$6,1 \times 10$	10	neg=2	$7,0 \times 10^2$	$9,5 \times 10$	10	neg=6	$2,3 \times 10^3$	$1,3 \times 10$
D.-Sc./g (wdb.)	4	$5,0 \times 10^2$	$1,8 \times 10^3$	$8,7 \times 10^2$	4	$2,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^3$	$6,6 \times 10^2$	7	neg=1	$3,0 \times 10^2$	$9,2 \times 10$
An. Spb./g	10	neg=2	$0,9 \times 10$	3,5	10	neg=7	$0,4 \times 10^4$	3,0	10	neg=4	$0,9 \times 10$	2,7
Koag.pos. Staph./g	10	$2,5 \times 10$	$1,1 \times 10^3$	$1,1 \times 10^2$	10	neg=5	$1,1 \times 10^3$	9,7	10	neg=1	$2,5 \times 10^2$	$1,3 \times 10$
Enterobact./g	10	$4,5 \times 10$	$1,1 \times 10^4$	$1,3 \times 10^3$	10	$4,5 \times 10$	$1,1 \times 10^5$	$2,6 \times 10^3$	10	$2,5 \times 10$	$1,5 \times 10^4$	$9,4 \times 10^2$
Coli. 44°C/g (G)	7	neg=1	$1,1 \times 10^4$	$1,5 \times 10^2$	7	$4,5 \times 10^2$	$1,1 \times 10^5$	$7,5 \times 10^3$	8	$0,4 \times 10$	$4,5 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$
Coli. 44°C/g (S)	7	$1,1 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$	$2,0 \times 10^3$	7	$4,5 \times 10^2$	$1,1 \times 10^5$	$7,5 \times 10^3$	8	$0,4 \times 10$	$4,5 \times 10^3$	$5,8 \times 10^2$
Coli. 44°C/g (VRB)	0				0				0			
TM %*	0				7	58,3%	59,5%	58,8%	7	59,3%	61,5%	59,9%
Fett i. Tr. %*	0				7	46,5%	48,0%	47,1%	7	46,5%	49,4%	47,6%
pH*	0				4	5,23	5,30	5,27	7	5,37	5,43	5,40
NaCl %*	0				7	0,91%	1,26%	0,94%	3	1,14%	1,23%	1,18%

Tabelle 10: (Fortsetzung)

Untersuchung auf:	4. Probe (28. Tag, vor dem Ver- packen)				5. Probe (nach 61-69 Tagen)				6. Probe (nach 124-159 Tagen)			
	n	min	max	$\bar{x}_g$	n	min	max	$\bar{x}_g$	n	min	max	$\bar{x}_g$
GKZ/g	10	$1,9 \times 10^7$	$2,2 \times 10^8$	$6,6 \times 10^7$	10	$8,0 \times 10^6$	$1,8 \times 10^8$	$4,1 \times 10^7$	9	$1,6 \times 10^5$	$6,4 \times 10^7$	$8,5 \times 10^6$
Cyt. ox.-pos./g	10	neg=3	$4,0 \times 10^3$	$1,2 \times 10^2$	10	neg=5	$1,0 \times 10^3$	$2,2 \times 10$	9	neg=7	$2,0 \times 10^3$	3,9
D.-Sc./g (dt.)	10	neg=6	$6,4 \times 10^2$	$1,1 \times 10$	10	neg=3	$1,6 \times 10^3$	$4,1 \times 10$	9	neg=4	$1,7 \times 10^3$	$3,4 \times 10$
D.-Sc./g (wdb.)	10	neg=3	$1,9 \times 10^3$	$4,4 \times 10$	10	neg=3	$2,6 \times 10^3$	$7,0 \times 10$	9	neg=2	$1,7 \times 10^3$	$8,1 \times 10$
An. Spb./g	10	neg=3	$1,5 \times 10$	4,1	10	neg=6	$0,9 \times 10$	2,2	9	neg=6	$4,0 \times 10$	2,8
Koag.-pos. Staph./g	10	neg=1	$9,5 \times 10$	$1,4 \times 10$	10	neg=5	$1,6 \times 10$	$1,3 \times 10$	9	neg=7	$0,4 \times 10$	1,4
Enterobact./g	10	$4,5 \times 10^2$	$1,1 \times 10^4$	$2,3 \times 10^3$	10	neg=2	$1,1 \times 10^4$	$1,1 \times 10^2$	9	neg=1	$1,1 \times 10^3$	$1,7 \times 10^2$
Coli. 44°C/g (G)	10	neg=2	$4,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^2$	10	neg=2	$1,1 \times 10^4$	$3,7 \times 10$	9	neg=1	$1,5 \times 10^3$	$1,4 \times 10^2$
Coli. 44°C/g (S)	10	$1,5 \times 10$	$4,5 \times 10^3$	$7,6 \times 10^2$	10	neg=2	$1,1 \times 10^4$	$3,7 \times 10$	9	neg=1	$4,5 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$
Coli. 44°C/g (VRB)	0				0				6	neg=1	$1,4 \times 10^3$	$1,7 \times 10^2$
TM %*	7	60,1%	61,9%	60,9%	10	61,1%	64,3%	62,1%	9	60,8%	64,8%	62,6%
Fett i. Tr. %*	7	45,0%	47,9%	46,3%	10	46,3%	51,3%	48,3%	9	46,8%	48,7%	47,8%
pH*	7	5,35	5,44	5,27	10	5,40	5,60	5,50	9	5,44	5,68	5,55
NaCl %*	7	0,94%	1,96%	1,36%	10	0,80%	1,70%	1,19%	9	1,10%	1,90%	1,56%

Anmerkungen:

* = arithmetischer Mittelwert; n = Anzahl der untersuchten Proben;
min = minimaler Keimgehalt; max = maximaler Keimgehalt; $\bar{x}_g$ = geometrischer Mittelwert; neg = Anzahl der negativen Proben; GKZ = Gesamtkeimzahl; Cyt.ox.-pos. = Anteil Cytochromoxidase-positiver Keime an der Gesamtkeimzahl; D.-Sc. (dt.) = Streptokokken der serologischen Gruppe D; D.-Sc. (wdb.) = nochmalige Untersuchung auf Streptokokken der serologischen Gruppe D nach Wiederbelebung (s. 3.2.4); An. Spb. = Anaerobe Sporenbildner; Koag.pos. Staph. = Koagulase-positive Staphylokokken; Enterobact. = Enterobacteriaceae; Coli. 44 °C (G) = höchstwahrscheinliche Zahl coliformer Keime, bestimmt anhand der Gasbildung in Brillantgrün-Galle-Lactose-Bouillon, nach 48-stündiger Bebrütung bei 44 °C (s. 3.2.9); Coli. 44 °C (S) = höchstwahrscheinliche Zahl coliformer Keime, bestimmt anhand des Säure- und Indolbildungsvermögens auf Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Lactose Agar nach 24-stündiger Bebrütung bei 44 °C und vorausgehender 48-stündiger Bebrütung bei 44 °C in Brillantgrün-Galle-Lactose Bouillon (s. 3.2.9); Coli. 44 °C (VRB) = coliforme Keime, bestimmt anhand direkter Beimpfung von Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Lactose Agar nach 48-stündiger Bebrütung bei 44 °C (s. 3.2.9); TM % = prozentualer Anteil der Trockenmasse an der Käseprobe; Fett i. Tr. % = prozentualer Anteil des Fettgehaltes an der Trockenmasse; pH = pH-Wert der Käseprobe; NaCl % = prozentualer Anteil des Kochsalzgehaltes an der Käseprobe.

Abbildung 11: Entwicklung der Gesamtkeimzahl in Steppenkäse

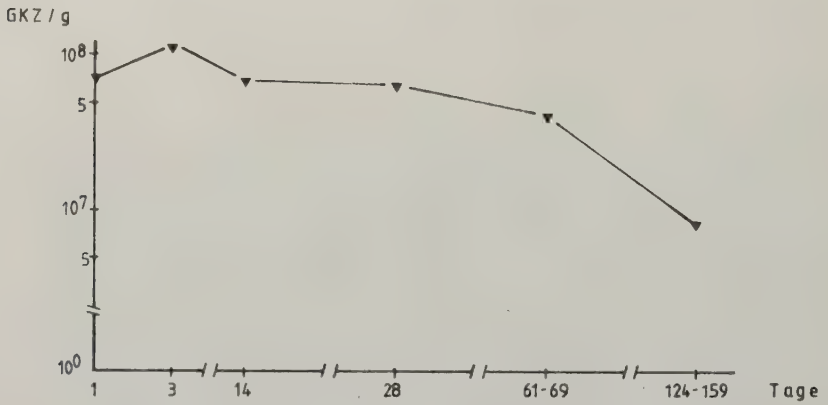


Abbildung 12: Entwicklung der Cytochromoxidase-positiven Keime in Steppenkäse

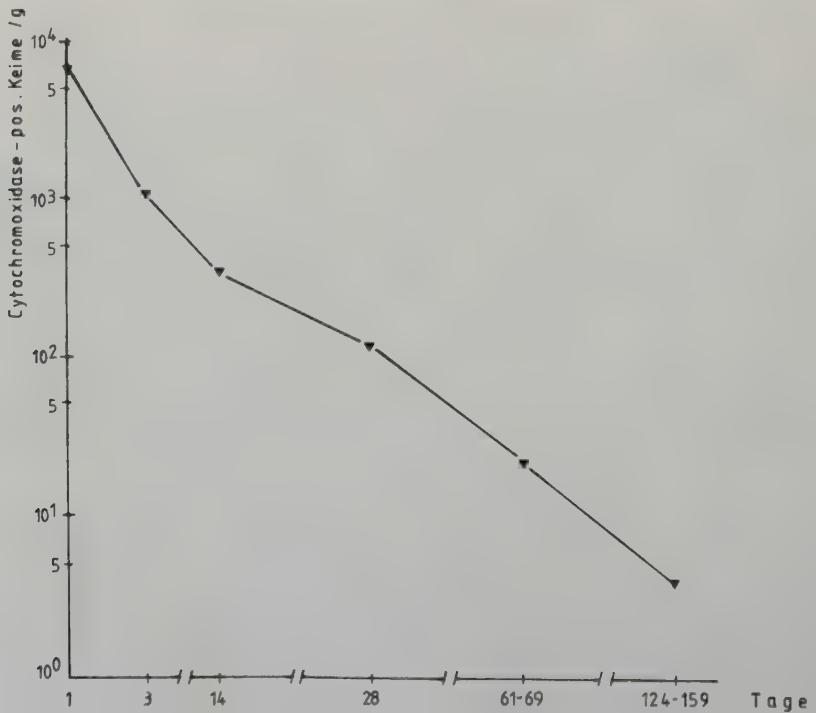


Abbildung 13: Entwicklung der Streptokokken der serologischen Gruppe D in Steppenkäse (nachgewiesen mit und ohne Wiederbelebung)

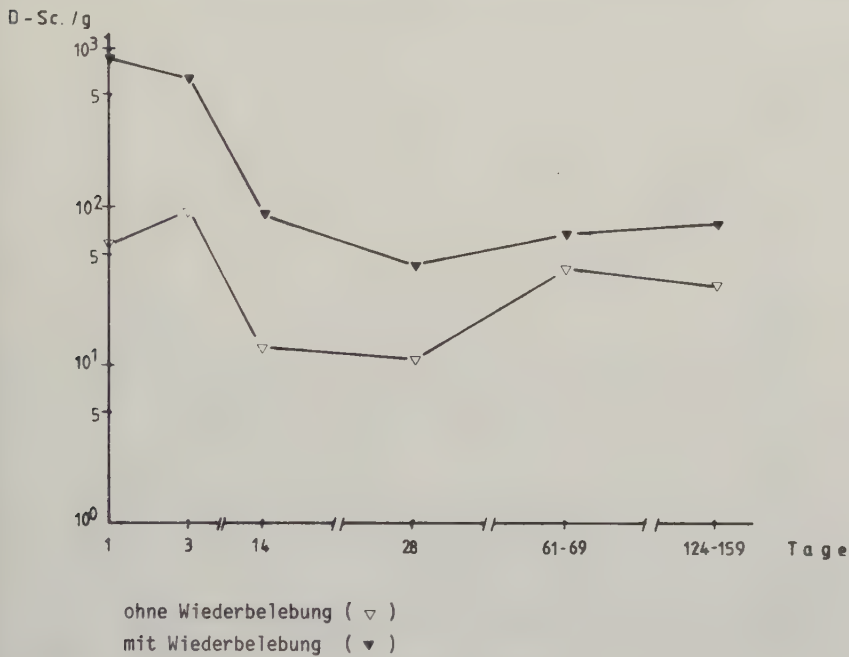


Abbildung 14: Entwicklung der Koagulase-positiven Staphylokokken und der anaeroben Sporenbildner in Steppenkäse

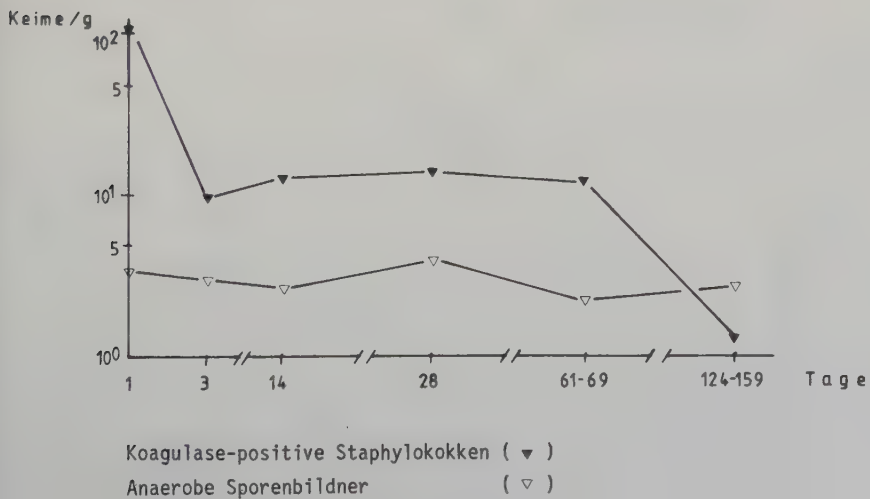
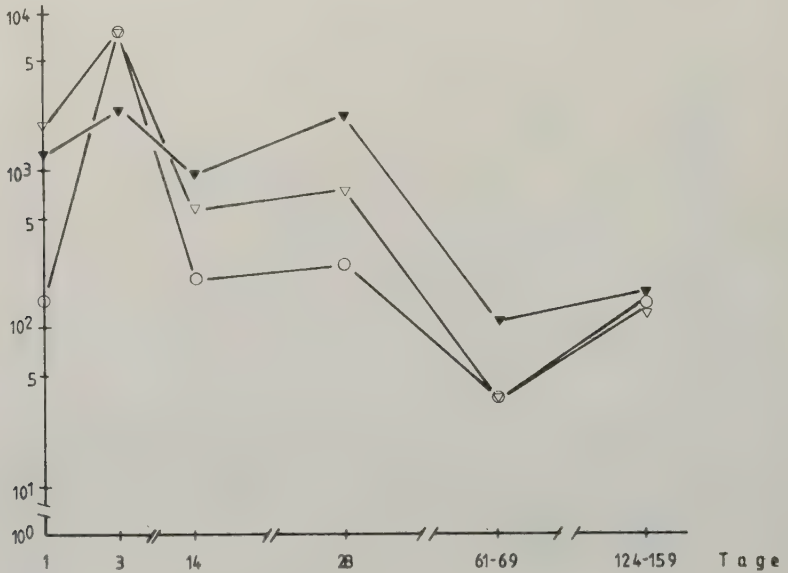


Abbildung 15: Entwicklung der Enterobacteriaceae und coliformen Keime (44°C)
in Steppenkäse

Keime /g



Enterobacteriaceae (▼)

Coli. 44°C (G)* (○)

Coli. 44°C (S)* (▽)

*s. Anmerkungen zu Tab. 10

Abbildung 16: Entwicklung des pH-Wertes in Steppenkäse

pH

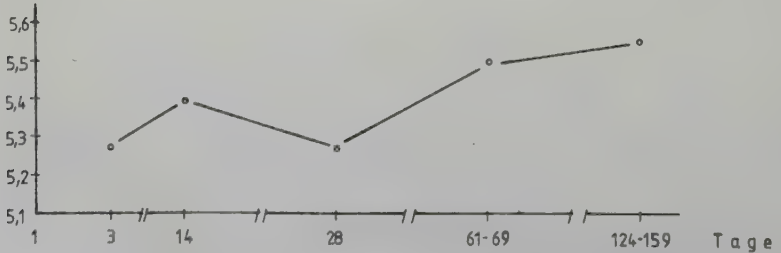
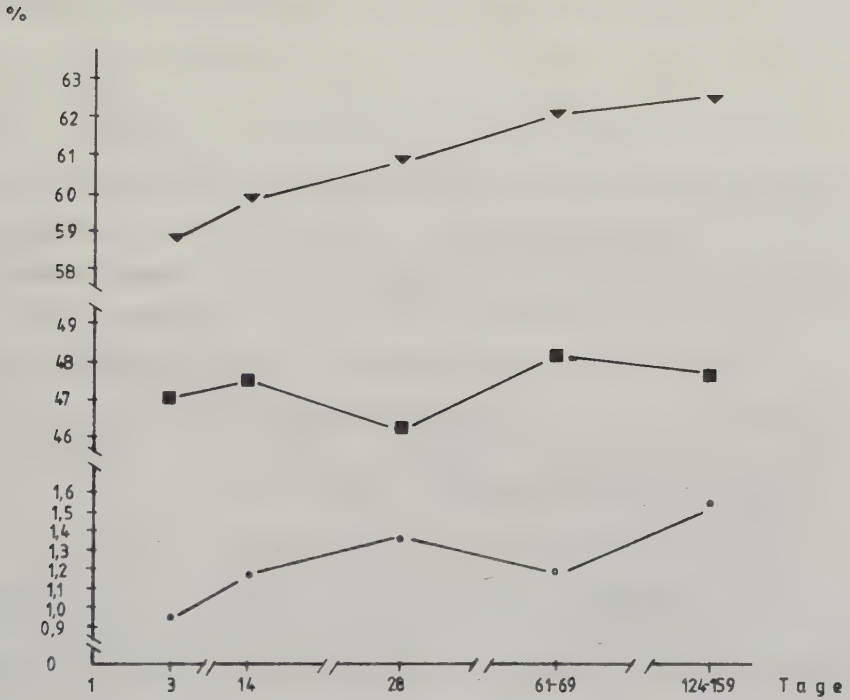


Abbildung 17: Entwicklung der Gehalte an Trockenmasse, Fett in der Trockenmasse und Kochsalz in Steppenkäse



Trockenmasse (▼)
Fett i. Tr. (■)
NaCl (•)

4. Besprechung der Ergebnisse und Diskussion

Milch und Milchprodukte zählen zu den sichersten Lebensmitteln tierischen Ursprungs (OLSON, 1980; TOLLE, 1979). Bei Käse haben allerdings vereinzelte "Lebensmittelvergiftungen" zu häufigen mikrobiologischen Untersuchungen geführt. Da deren Ergebnisse nicht ohne weiteres interpretiert werden konnten, ergab sich die Forderung nach Aufstellung von Grenzwerten bis hin zu Standards. Die sich hieraus ergebenden Diskussionsvorschläge wurden oft bereits als Standards eingesetzt, was nicht unwidersprochen blieb. So ergab sich hinsichtlich der bakteriologischen Beurteilung von Käse eine z. T. erhebliche Verunsicherung für Untersuchungsstellen und Produktionsbetriebe. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte aufgrund von Erhebungen die bakteriologische Beschaffenheit handelsreifer Gouda und Steppenkäse ermittelt sowie in Verlaufsuntersuchungen an Steppenkäse während Herstellung und Reifung bzw. Lagerung die Dynamik von Keimgruppen beobachtet werden. Chemische Parameter sollten gleichzeitig erfaßt und deren eventueller Einfluß auf die Keimflora geprüft werden.

Obwohl die Gesamtkeimzahl bei fermentierten Milchprodukten wie Schnittkäse nur wenig Bedeutung hat, wurde ihre Bestimmung aus 3 Gründen in die eigenen Untersuchungen miteinbezogen, um: 1. einen Überblick über das gesamte Potential aerob wachsender Bakterien in Gouda und Steppenkäse zu erhalten, 2. die Entwicklung der Gesamtkeimzahl im Vergleich zu der einzelner Bakteriengruppen verfolgen und 3. die ausgewerteten Plate-count-Agarplatten als Ausgangspunkt für die Bestimmung des Anteils Cytochromoxidase-positiver Keime nach der unter 3.2.3 geschilderten Methode benützen zu können.

Die im Rahmen der Erhebungen ermittelten Gesamtkeimzahlen bewegten sich in Bereichen, wie sie auch im Schrifttum angegeben werden (s. Tab. 2). In den eigenen Untersuchungen waren zwischen den beiden Sorten Gouda und Steppenkäse keine wesentlichen Unterschiede festzustellen, für beide Sorten lagen die Werte zu 50 % unter 5×10^6 Keimen/g (s. Abb. 1), lediglich die etwas größere Streuung

der Werte für Steppenkäse fiel auf.

Bei Korrelationsberechnungen, deren Ergebnisse nicht im einzelnen aufgeführt wurden, ergab sich für die gefundenen Gesamtkeimzahlen in den Erhebungen folgendes Bild: Proben mit hohen Keimzahlen an D-Streptokokken (sowohl mit als auch ohne Wiederbelebung), an Enterobacteriaceae oder Coliformen wiesen stets eine signifikant höhere Gesamtkeimzahl auf, woraus zu schließen ist, daß Keime dieser Gruppe einen deutlichen Anteil am absoluten Keimgehalt haben. Bei den chemischen Parametern ergab sich eine positive Abhängigkeit zwischen erhöhten pH-Werten sowie zwischen niedrigen Kochsalzkonzentrationen einerseits und einer hohen Gesamtkeimzahl andererseits. Das Alter der Käseproben beeinflusste nach den Ergebnissen der Berechnungen die Gesamtkeimzahlen nicht. Letzteres ist wahrscheinlich auf die große Variationsbreite des Alters der zur Untersuchung gelangten Käseproben (von 34 bis 274 Tage) zurückzuführen.

Bei den Resultaten der Verlaufsuntersuchungen (s. Abb. 11) fällt auf, daß eine Keimvermehrung noch bis zum Abschluß des Salzbadens stattfand. Der Anstieg der Keimzahlen während des Herstellungsprozesses betrug, ausgehend von den Werten der Kesselmilch, ca. 2 Zehnerpotenzen und erhöht sich während der folgenden 2 Tage nochmals um 54 %. In dieser Zeit befanden sich die Steppenkäseblöcke im Salzbad und wiesen anschließend einen durchschnittlichen Kochsalzgehalt von 0,94 % im Inneren auf.

Von anderen Autoren, die im Rahmen von Verlaufsuntersuchungen die Gesamtkeimzahl erfaßten, wurde das Maximum i. d. R. vor der Salzzugabe beobachtet. So registrierten SIMONART und POFFE (1970) in Gouda eine Reduktion der Gesamtkeimzahl durch das Salzbad um ca. 40 % im Inneren und ca. 70 % in den Randschichten. JENSEN et al. (1973) ermittelten bei der Cheddarherstellung zunächst einen Anstieg der Gesamtkeimzahl um 2 Zehnerpotenzen, die mit dem "Mahlen" des Bruches ihr Maximum erreichte und danach abzusinken begann. Für Salzlakenkäse schließlich gilt der Kochsalzgehalt als der entscheidende, die Höhe der Gesamtkeimzahl limitierende Faktor (YANAI et al., 1976).

Dafür, daß in den eigenen Untersuchungen der Einfluß des Salzbad es nicht ähnlich stark ausgeprägt war, gibt es mehrere Erklärungen. Zunächst ist die Salzkonzentration bei der Steppenkäseherstellung (s. 2.1) geringer als bei der Produktion von Roquefort, Cheddar und insbesondere von Salzlakenkäse. Die Unterschiede zu den von SIMONART und POFFE (1970) angegebenen Daten für Gouda könnten in einem verzögerten Salzausgleich durch Texturunterschiede zwischen Gouda und Steppenkäse begründet liegen. Da auch in den eigenen Untersuchungen eine Keimzahlreduktion nach dem 3. Tag beobachtet wurde, mag außerdem der Untersuchungszeitpunkt eine Rolle gespielt haben.

Nach 14 Tagen hatte sich die Gesamtkeimzahl wieder auf den Ausgangswert des 1. Tages verringert. Bis zur letzten Untersuchung nach 18 - 23 Wochen erfolgte eine weitere kontinuierliche Reduktion. Nach etwa einem halben Jahr war die Gesamtkeimzahl um ca. 1 Zehnerpotenz gegenüber dem Wert am Produktionstag vermindert (s. Abb. 11). Der Keimgehalt in reifendem bzw. lagerndem Steppenkäse zeigte somit, wie aus Abb. 11 hervorgeht, bis zur 9. Woche wenig Tendenz zur Abnahme und schien eher von der Höhe der Ausgangskeimzahl als vom Alter des Käses abhängig zu sein.

Die Ergebnisse der Cytochromoxidase-positiven Keime in den Erhebungen lagen mit 52 % positiven Proben bei Gouda und 44 % positiven Proben bei Steppenkäse deutlich über denen von KIELWEIN (1970), der nur in 17 % der von ihm untersuchten Käseproben Pseudomonaden, die nach KIELWEIN (1977 a) in der Milchwirtschaft den größten Anteil an den Cytochromoxidase-positiven Keimen haben, nachweisen konnte. Quantitativ gesehen enthielten in den eigenen Untersuchungen 94 % der Proben unter 5×10^3 Keime/g. Korrelationsberechnungen auf der Basis von 32 Schnittkäseproben zeigten keinerlei Abhängigkeit dieser Keimgruppe von anderen Keimen oder den chemischen Parametern.

Die in die Verlaufsuntersuchungen eingeschlossenen Bestimmungen des Gehaltes der vorgereiften Milch und der Kesselmilch an Cytochromoxidase-positiven Keimen erbrachten für erstere Zahlen in einer Größenordnung von 5 bis 7×10^2 , für

letztere solche von 10^3 /ml. Die Gesamtkeimzahlen lagen zu diesem Zeitpunkt um etwa 2 - 3 Zehnerpotenzen höher, unmittelbar nach Produktionsende betrug die Differenz mehr als 4 Zehnerpotenzen. Der Gehalt an Cytochromoxidase-positiven Keimen stieg während der Produktion nur um knapp eine Zehnerpotenz und sank im fertigen Käse mit zunehmendem Alter kontinuierlich (s. Abb. 12). Ähnliche Verhältnisse herrschen nach THOMPSON und MARTH (1974) in Parmesan. Unmittelbar nach der Herstellung fanden diese 10^4 psychrotrophe Keime/g und ein Abfallen der Werte im folgenden Zeitraum.

In den eigenen Untersuchungen erfolgte die deutlichste Reduktion der Zahl an Cytochromoxidase-positiven Keimen (mehr als 1,5 Zehnerpotenzen) während der ersten 2 Wochen (s. Abb. 12). Danach verlangsamte sich ihr Absterben zwar, schritt aber kontinuierlich fort, so daß die Keimzahlen bis zur 10. und bis zur 23. Woche nochmals um jeweils etwa eine Zehnerpotenz abnahmen. 7 von 9 Untersuchungen waren zum letztgenannten Zeitpunkt schon negativ (s. Tab. 10), in einer Probe wurde die Nachweisgrenze von 10^2 Keimen/g gerade erreicht, während die zweite, zu diesem Zeitpunkt noch positive Probe, die gesamte Verlaufsuntersuchung über keine Keimreduktion erkennen ließ und in der letzten Untersuchung noch 2×10^3 Cytochromoxidase-positive Keime/g enthielt. Da keine weiterführenden Tests durchgeführt wurden, bleibt offen, welche Spezies innerhalb der Gruppe der Cytochromoxidase-positiven Keime für die lange Verweildauer in diesem Steppenkäse verantwortlich war. Allerdings läßt der Befund vermuten, daß einige Vertreter sich an das Milieu des Schnittkäses anpassen können, wenn auch ohne Möglichkeiten, sich zu vermehren.

Streptokokken der serologischen Gruppe D, im folgenden auch als Enterokokken bezeichnet, konnten im Verlauf der Erhebungen in 59 % der Schnittkäseproben nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis liegt unter den von anderen Untersuchern registrierten Werten (s. Tab. 3), soweit dort Prozentzahlen angegeben werden. KIEL-WEIN (1977 b) fand allerdings bei der Untersuchung von 22 Proben Schnittkäse (u. a. Gouda, Edamer und Tilsiter) ebenfalls nur in 59 % davon Enterokokken.

Für die vom Schrifttum abweichenden Befunde waren in erster Linie die untersuchten Gouda verantwortlich. So konnten nur aus 48 % der geprüften 29 Proben D-Streptokokken isoliert werden (s. Abb. 2), 97 % enthielten weniger als 5×10^3 Keime/g. Damit fielen die Zahlen deutlich niedriger aus als bei vergleichbaren Untersuchungen (s. Tab. 3). Eine Probe eines 197 Tage alten deutschen Gouda wies $2,5 \times 10^8$ Keime/g auf, ein Ergebnis, das in ähnlicher Höhe auch von FOSTER et al. (1942) in Brick und von RITTER (1976) in nachgegorenem Emmentaler gefunden wurde. Nach Verzehr von ca. 150 g dieses Gouda, der sensorisch als einwandfrei zu beurteilen war, traten bei einer von 2 Personen nach 3 - 4 Stunden Übelkeit und Schmerzen in Abdomen auf, Symptome, die nach 12 Stunden wieder abklangen. Es handelte sich hierbei allerdings um einen Zufallsbefund, dem nicht weiter nachgegangen werden konnte und der daher auch keine Schlußfolgerungen zuläßt.

Die Untersuchungsergebnisse von Steppenkäsen entsprechen mit einer Nachweisrate von 83 % eher den in Tab. 3 zusammengefaßten Literaturdaten. Auch KIELWEIN (1977 b) berichtet von einer deutlich höheren Nachweishäufigkeit in Tilsiter, einer dem Steppenkäse verwandten Sorte, als in Gouda und Edamer.

Die in Zusammenhang mit den Erhebungen durchgeführten Korrelationsberechnungen deuten auf einen Zusammenhang hoher Enterokokkengehalte mit einer ebenfalls hohen Gesamtkeimzahl und relativ hohen pH-Werten hin. In älteren Schnittkäsen lagen die Werte für Enterokokken höher als in jungen. Dies entspricht Beobachtungen von OTTE (1976) und KIELWEIN (1977 b), die in den länger gelagerten Hartkäsesorten höhere Enterokokkenzahlen fanden. Dies könnte mit einer relativen Anreicherung der D-Streptokokken während der längeren Lagerzeit, in der sich die höhere Widerstandskraft dieser Keime gegenüber Austrocknung und Salzgehalt auswirkt, erklärt werden, wofür auch die Angaben von CLARK und REINBOLD (1967) sprechen, die in 7 von 41 über drei Monate bei $7,2^{\circ}\text{C}$ gelagerten Cheddarkäsen Enterokokken als alleinigen und in weiteren 10 Proben als mit über 70 % dominierenden Bestandteil der Bakterienflora identifizierten. Andererseits wurden auch in Weichkäsen höhere Enterokokkenzahlen als in Schnittkäsen nachgewiesen. Allerdings liegen dort die pH-Verhältnisse für die Keime günstiger.

Zur Klärung der Frage, ob sich bei der bakteriologischen Untersuchung von Käse eine Wiederbelebung eventuell subletal geschädigter Keime günstig auf den Nachweis relevanter Keimgruppen auswirkt, wurde die Untersuchung auf D-Streptokokken herangezogen. Ihr Vorkommen im Probenmaterial in zur Beurteilung ausreichender Zahl konnte angenommen werden (s. Tab. 3), die Tenazität gilt als relativ hoch (ASPERGER, 1976; CHORDASH und INSALATA, 1978; INSALATA et al., 1969; KIELWEIN, 1977 b; MOSSEL et al., 1978; RAMADAN, 1960) und ihr Routinenachweis ist wenig aufwendig (s. 3.2.4). Zur Durchführung wurde in Anlehnung an die von MOSSEL und RATTÖ (1970) für Enterobacteriaceae geschilderte Wiederbelebungstechnik ein Verfahren gewählt, welches sich vom zeitlichen Aufwand und dem verwendeten Material her gut in den Untersuchungsgang integrieren ließ und mit den im Labor gebräuchlichen Medien auskam (MOSSEL et al., 1978). Das zur Aufbereitung der Proben verwendete gepufferte Peptonwasser wurde gleichzeitig auch als Wiederbelebungsmedium benützt und die von MOSSEL und RATTÖ (1970) für Enterobacteriaceae als ausreichend angesehene Wiederbelebenszeit von 2 Stunden übernommen, die Bebrütungstemperatur allerdings von den dort angegebenen 19 - 25 °C auf 37 °C erhöht.

Wie aus Tab. 9 hervorgeht, wurde die Doppelbestimmung der D-Streptokokken bei 83 Schnittkäseproben durchgeführt (hierin sind auch 44 Proben der Verlaufsuntersuchung berücksichtigt) und führte nur mehr bei 24 % der Proben zu negativen Ergebnissen gegenüber 42 % negativen im Direktansatz. Für die Sorten Gouda und Steppenkäse ergab sich im einzelnen folgendes Bild:

Die Anzahl negativer Gouda reduzierte sich nach Wiederbelebung von 52 auf 37 %, keine im Direktausstrich positive Probe war nach Wiederbelebung negativ. Bei Betrachtung der Keimzahlunterschiede in beiden Untersuchungen (s. Tab. 9; Zeile 8 und 9) waren keine wesentlichen Unterschiede zu erkennen.

Deutlicher fiel die Abnahme negativer Proben beim Steppenkäse aus, wo nach Wiederbelebung nur mehr in 18 % der Proben keine Enterokokken nachweisbar waren gegenüber 37,5 % im Direktausstrich. Allerdings zeigten 2 Proben nur im Direktausstrich (s. Tab. 9; Zeile 5) ein positives Ergebnis. Die Keimzahlen dieser

Proben lagen mit 1×10^2 bzw. 3×10^2 Keimen/g an bzw. knapp über der Nachweisgrenze und sprechen weniger für eine Unzuverlässigkeit der Wiederbelebung, sondern belegen die im Schrifttum (BRANDL, 1976, 1979; DOMMETT, 1974; DEVOYOD, 1969; GINZINGER, 1979 a; SIMONART und POFFE, 1970; WINTERER, 1976) angesprochene heterogene Verteilung der Bakterien im Käse, die als Fehlerquelle auch durch sorgfältige Aufbereitung des Untersuchungsgutes (ASPERGER, 1977) nicht zu eliminieren ist.

Bei der Enterokokkenbestimmung nach Wiederbelebung wurde ebenfalls mit Korrelationsberechnungen nach Abhängigkeiten dieser Keimgruppe von anderen Parametern gesucht. Während die Höhe der D-Streptokokkenzahlen im Direktansatz noch signifikant mit hohen Keimzahlen, einem höheren Alter und einem höheren pH-Wert korrelierte, ergab sich für ein hohes Ergebnis nach Wiederbelebung nur mehr die Beziehung zu der erhöhten Gesamtkeimzahl. Die nach Einschalten des Wiederbelebungsschrittes fehlenden positiven Korrelationen mit dem pH-Wert und dem Alter unterstützen die bereits geäußerten Vermutungen, daß auch nach einer längeren Lagerungsdauer die Enterokokken noch genügend vital sind und der Wiederbelebungsschritt in Proben mit günstigen pH-Verhältnissen an Effizienz gegenüber dem Direktansatz verliert.

In den Verlaufsuntersuchungen wurden vor Produktionsbeginn jeder Charge je eine Probe der vorgereiften Milch und der vollständig beimpften und eingelabten Kesselmilch sowie der gebrauchsfertige Säurewecker auf das Vorhandensein von Enterokokken geprüft. Sämtliche Untersuchungen verliefen negativ. Ob es sich bei den nach Abschluß des Pressens in einer mittleren Größenordnung von 61/g (im Direktansatz) und $8,7 \times 10^2$ /g (nach Wiederbelebung) nachgewiesenen Enterokokken (s. Tab. 10) um solche, die die Pasteurisierung überlebt haben (ASPERGER, 1976; IENISTEA et al., 1970; KIELWEIN, 1978; MOSSEL et al., 1978; SHANNON et al., 1970), um Rekontaminanten aus den Stapeltanks und Milchleitungen (KIELWEIN, 1976) oder um während der Produktion in den Käsefertiger oder die Wanne gelangte Keime, die von den Bearbeitungsgeräten, aus der Luft oder vom Personal, das hier erstmals längeren direkten Kontakt zum Produkt hat, stammen, handelte, konnte nicht endgültig abgeklärt werden. Wie aus Tab. 10 hervorgeht, wurden auch nach Wieder-

belegung maximal $1,8 \times 10^3$ Enterokokken/g isoliert. Die übrigen Werte bewegten sich so nahe an der Nachweisgrenze von 100/g, daß trotz des negativen Befundes der Kesselmilch nicht mit Sicherheit deren tatsächliche Freiheit anzunehmen ist und somit die Enterokokken eindeutig als Rekontaminationskeime zu betrachten wären.

Bei der ersten Untersuchung innerhalb der Produktionslinie wies das Ergebnis nach Wiederbelegung den deutlichsten Anstieg gegenüber dem Direktansatz (s. Abb. 13) auf. Dies weist darauf hin, daß trotz eventueller Vermehrung während der Produktion Streßfaktoren auf die Enterokokkenpopulation einwirken und ihre Fähigkeit zum Anwachsen auf dem Kanamycin-Äsculin-Azid-Agar einschränken. Da man davon ausgehen kann, daß die bei Schnittkäsesorten übliche Nachwärmtemperatur von 44°C nicht überstiegen wurde (s. 2.1), dürfte als mehr belastender Faktor die pH-Wert-Abnahme (s. Tab. 1) und die Konkurrenz mit den Starterkulturen um das Substrat Lactose (JENSEN et al., 1973) in Frage kommen. Falls es sich um Keime handelte, die die Pasteurisierung überlebt haben, ist auch deren Nachwirkung zumindest auf die weniger resistenten Individuen in Betracht zu ziehen.

Bei der Untersuchung am 3. Tag konnte ein reduzierender Einfluß des Salzbadess auf die D-Streptokokkenzahl erwartungsgemäß (ERGÜLLÜ, 1982; JENSEN et al., 1973; KIELWEIN, 1977 b; YANAI et al., 1976) nicht nachgewiesen werden. Lediglich bei DEVOYOD (1969) finden sich Angaben über eine um 56 % verminderte Enterokokkenzahl in der Außenschicht von Roquefort nach dem Salzen, während im Inneren der Käse ein Anstieg um 55 % zu verzeichnen war. In der eigenen Untersuchung wurde im Direktansatz ein Ansteigen der D-Streptokokkenzahl um 56 % beobachtet, während sich das Ergebnis nach Wiederbelegung um 24 % reduzierte (s. Abb. 13; Prozentzahlen jeweils bezogen auf das Ergebnis der vorangegangenen Untersuchung). Bei einem Vergleich der Prozentzahlen mit denen von DEVOYOD (1969) fällt die annähernd synchrone Keimzahlentwicklung im Inneren von Steppenkäse und Roquefort während des Salzens auf (auch die eigenen Angaben beziehen sich (s. 3.2.1) auf das Innere des Käseblocks). Durch das Salzbad kam es also nicht zu einem verstärkten Streß für die Enterokokken, die Annäherung der beiden Kurven (s. Abb. 13) zeigt eher einen verminderten Druck auf die Enterokokkenpopulation während

der ersten beiden Tage.

Die Zeit vom 3. bis zum 14. Tag stellt für die D-Streptokokken die Phase der stärksten Reduktion (um 86 % gegenüber dem Wert am 3. Tag) während der gesamten Reifung bzw. Lagerung dar. Wie der parallele Verlauf der Kurven in Abb. 13 zeigt, handelt es sich dabei um eine echte Verminderung der Keimzahl und nicht um ein durch Wiederbelebung auszugleichendes Nachweisproblem. Die Abnahme setzte sich bis zum 28. Tag, allerdings deutlich verlangsamt, fort und erscheint mit Wiederbelebung etwas stärker als im Direktansatz. Die Differenz ist allerdings so gering, daß sie sich mit dem für Keimzahlbestimmungen grundsätzlich relativ hohen Methodenfehler erklären läßt. Ein Vergleich mit Abb. 11 und Abb. 17 zeigt, daß im selben Zeitraum auch die Gesamtkeimzahl sank und der Kochsalzgehalt deutlich anstieg. Der pH-Wert (s. Abb. 16) verändert sich dagegen in dieser Zeit nicht.

Nach dem 28. Tag wurden die Überlebensbedingungen für zu diesem Zeitpunkt noch vermehrungsfähige D-Streptokokken wieder besser; beide Kurven zeigten bis zur 9. Woche eine Steigung (s. Abb. 13). Dieser Anstieg fiel für die Keimzahl im Direktansatz steiler aus als für die Keimzahl nach Wiederbelebung. Die Ergebnisse selbst unterschieden sich kaum, was dafür spricht, daß Streßeinflüsse auf die D-Streptokokken während dieser Zeit gering waren. Der Anstieg fiel mit einer deutlichen Erhöhung des pH-Wertes (s. Abb. 16) und einer leichten Gesamtkeimzahlverringering (s. Abb. 11) zusammen, worin eventuell ein Grund für das Nachlassen des Druckes auf die Enterokokken liegen könnte.

In der Zeit bis zur letzten Untersuchung reduzierten sich die D-Streptokokkenwerte im Direktausstrich wieder, während sie nach Wiederbelebung ihren Anstieg stark verlangsamt fortsetzten (s. Abb. 13). Da die Untersuchung nach der 23. Woche abgebrochen wurde, ist über die absolute Überlebensdauer der Enterokokken in Steppenkäse keine Aussage möglich. Mit einem völligen Verschwinden der Keime, wie es KOSIKOWSKY und DAHLBERG (1948) bei Ausgangskeimzahlen im Bereich von $10^5/\text{g}$ (mit 5 Wochen) nach 60 bzw. 120 Tagen (Lagertemperatur $15,5^\circ\text{C}$ bzw. 10°C) in Cheddar beobachteten, kann nach den eigenen Ergebnissen nicht gerechnet werden. Auch andere Autoren berichten von positiven Enterokokkennachweisen bis zum Abschluß

ihrer Verlaufsuntersuchungen. So fanden CLARK und REINBOLD (1967) nach 90 Tagen und JENSEN et al. (1973) nach 180 Tagen in Cheddar, KIELWEIN (1970) nach 120 Tagen in Emmentaler, ERGÜLLÜ (1982) nach 180 Tagen in weißem Käse und DEVOYOD (1969) nach 100 Tagen in Roquefort noch erhebliche Enterokokkenzahlen. Daß eine Erhöhung der Lagertemperatur ein Absterben der Keime fördern kann (KOSIKOWSKY und DAHLBERG, 1948), geht unter anderem aus einer Untersuchung von KIELWEIN (1970) hervor, derzufolge eine Erhöhung der Temperatur nach 4 Monaten von 6 °C auf 14 °C die Gehalte an *Sc. faecium* in Emmentaler innerhalb von 2 Wochen unter die Nachweisgrenze drückte. Für *Sc. faecalis* betrug nach JENSEN et al. (1973) die Reduktion nach 180 Tagen bei einer Lagertemperatur von 7,2 °C 0,7 Zehnerpotenzen und bei 12,8 °C 1,3 Zehnerpotenzen.

Ob in altem Käse noch eine echte Vermehrung von D-Streptokokken stattfindet, müßte in zeitlich ausgedehnten Lagerungsversuchen bei unterschiedlichen Temperaturen geprüft werden. Nach den eigenen Untersuchungen erscheint eine Vermehrung zwar möglich, aber nicht wahrscheinlich. Die erneut auftretende Divergenz der Kurven zwischen den letzten beiden eigenen Untersuchungen (s. Abb. 13) spricht eher für eine Zunahme des Stresses.

Sollte tatsächlich unter bestimmten Voraussetzungen (SHATTOK, 1962) durch toxisogene Enterokokken (MOORE, 1955; THOMAS und NAMUDRIPAD, 1974) oder ihre Decarboxylaseaktivität (s. 2.3.3) eine Gefährdung des Konsumenten gegeben sein, so bedeuten Keimzahlen, wie sie im Rahmen der Verlaufsuntersuchungen (s. Abb. 13) ermittelt wurden, wahrscheinlich kein Risiko. Nach Angaben von LÜND und GASSER (1964), REUTER (1978) sowie TOLLE et al. (1971) sollen zur Auslösung einer solchen Intoxikation Zahlen von 10^6 bis 10^8 Keimen/g notwendig sein. Andererseits konnten, wie bereits erwähnt, im Rahmen der Erhebungen aus einer Goudaprobe Enterokokkenzahlen dieser Größenordnung isoliert werden. Voraussetzung für das Erreichen einer derart hohen Keimzahl wäre, zumindest für Steppenkäse, allerdings eine hohe Ausgangskontamination, da, wie aus Abb. 13 hervorgeht, mit einem exzessiven Wachstum während Reifung bzw. Lagerung nicht zu rechnen ist.

Wie unter 2.3.3 ausgeführt, soll den D-Streptokokken auch Bedeutung bei der

Entstehung von Fehlerkäsen durch sensorische Veränderungen zukommen (COVENTRY et al., 1978; FOSTER et al., 1942; KIELWEIN, 1977 b; RITTER, 1976). Es wird allerdings wenig über die hierzu notwendigen Keimzahlen gesagt. Nach RITTER (1976) liegen sie zwischen 10^3 und 10^8 Keimen/g. Auch nach durchgeführter Wiederbelebung enthielten bei den eigenen Untersuchungen die im Zusammenhang mit den Erhebungen geprüften Gouda zu 96 % und die Steppenkäse zu 83 % weniger als 10^4 Enterokokken/g, so daß unter Berücksichtigung der bei RITTER (1976) genannten Zahlen keine Qualitätseinbußen zu erwarten wären. Einige auf Stichprobenbasis durchgeführte sensorische Prüfungen bestätigten diese Vermutung. Wie bereits erwähnt, erbrachte die sensorische Prüfung einer $2,5 \times 10^8$ Enterokokken/g enthaltende Goudaprobe keinen von den Anforderungen abweichenden Befund.

Bei den Erhebungen wurde ein nur sehr geringer Kontaminationsgrad des Untersuchungsmaterials mit Bacillus cereus festgestellt. Aus 40 Proben konnte der Keim nur einmal isoliert werden (s. 3.3.1.4) und dabei auch nur in einer die Nachweisgrenze gerade erreichenden Keimzahl von 1×10^2 /g. OTTE (1976) fand bei ihren Untersuchungen *B. cereus* in gereiftem Käse überhaupt nicht. In Anbetracht seines häufigen Vorkommens in Rohmilch (MARTIN, 1974) und seiner Resistenz gegenüber den Pasteurisierungstemperaturen (STADHOUDERS et al., 1982) fallen diese sowie auch die eigenen Untersuchungsergebnisse geringer als erwartet aus, vor allem wenn man die Angaben von MIKOLAJCIK et al. (1974) zur raschen Vermehrung von *B. cereus* im Cheddarbruch und zum langen Überleben der Sporen in gelagertem Cheddar berücksichtigt. Möglicherweise liegen in den untersuchten Käsen ähnliche Verhältnisse wie in anderen, vorwiegend aus Milch hergestellten Erzeugnissen vor, nämlich häufiges Vorkommen von *B. cereus*, aber in nur geringer Zahl. Hierfür würde zum einen der Bericht von AHMED et al. (1983) sprechen, die in 14 % der von ihnen geprüften Cheddarproben *B. cereus* in einer maximalen Keimzahlhöhe von 2×10^2 /g fanden, zum anderen auch das Resultat der eigenen Verlaufsuntersuchungen mit 5×10^2 *B. cereus*/g in einer Steppenkäseprobe bzw. die oben erwähnte positive Probe aus den Erhebungen.

Die Kontaminationsrate mit Koagulase-positiven Staphylokokken lag im Fall

der Erhebungen in Gouda und Steppenkäse jeweils bei ca. 60 %. Mit Ausnahme eines Gouda, der am 100. Tag nach der Herstellung $4,5 \times 10^4$ /g enthielt, betrug ihre Zahl sonst meist weniger als 10^2 /g. Die eigenen Ergebnisse entsprechen im wesentlichen den in Tab. 5 aus dem Schrifttum zusammengestellten Kontaminationsraten und Keimzahlen, sieht man ab von den negativen Resultaten bei ASPERGER et al. (1983) und OTTE (1976) für Mozzarella bzw. verschiedene Käse, die aber nicht ohne weiteres auf die in den eigenen Untersuchungen registrierten Werte übertragbar sind (ASPERGER et al.) bzw. von den übrigen Ergebnissen im Schrifttum deutlich abweichen (OTTE). Die Korrelationsberechnungen erbrachten keine Abhängigkeit der Koagulase-positiven Staphylokokken von anderen Keimen oder chemischen Parametern.

Bei der Überprüfung von Milch und Kesselmilch im Rahmen der Verlaufsuntersuchung konnten einmal in der Kesselmilch der 1. Charge Koagulase-positive Staphylokokken nachgewiesen werden mit einer höchstwahrscheinlichen Keimzahl von 2/g. Nach dem Pressen war der Nachweis in allen 10 untersuchten Steppenkäsen positiv (s. Tab. 10), der geometrische Mittelwert der höchstwahrscheinlichen Keimzahlen betrug $1,1 \times 10^2$ /g. Dieser Keimzahlanstieg liegt in ähnlicher Höhe wie von TATINI et al. (1971), WALKER et al. (1961) sowie TAKAHASHI und JOHNS (1959), allerdings nach künstlicher Kontamination der Kesselmilch, angegeben.

Bei der 2. Untersuchung konnten aus 5 der 10 untersuchten Steppenkäse keine Koagulase-positiven Staphylokokken mehr isoliert werden. Dies deckt sich mit den Berichten von TATINI et al. (1971), ROUGHLEY und McLEOD (1961), WALKER et al. (1961) sowie TAKAHASHI und JOHNS (1959), die ein Einsetzen der Reduktion ebenfalls unmittelbar nach der Käsefertigung beobachteten. Für die Abnahme müßte, bei einem Vergleich dieser Ergebnisse mit denen der 3. Untersuchung, der niedrige pH-Wert nach dem Pressen verantwortlich gewesen sein. Da in der 3. Untersuchung (s. Tab. 10) Nachweisrate und Mittelwert wieder höher lagen, obwohl durch den Salzausgleich ein Anstieg des NaCl-Gehaltes stattgefunden hatte (s. Abb. 17), kommt der Salzzugabe erwartungsgemäß kaum Bedeutung bei der Reduktion der Koagulase-positiven Staphylokokken nach dem Salzbad zu. (Die hohe Kochsalztoleranz nicht geschädigter Staphylokokken ist seit langem bekannt (BUSTA und JEZESKI, 1963)).

Bis zur 4. Untersuchung blieben Nachweisrate und Mittelwert der Keimzahl im wesentlichen unverändert (s. Tab. 10). Der pH-Wert entsprach dem Wert der 2. Untersuchung.

Die Ergebnisse der 5. Untersuchung zeigten eine Zunahme der negativen Proben (s. Tab. 10), was aber kaum in einer Veränderung des geometrischen Mittelwertes zum Ausdruck kam (s. Abb. 14). Daß dennoch hier bereits ein Absterben der Koagulase-positiven Staphylokokken eingesetzt hatte, zeigte die 6. Untersuchung, in der sich die Anzahl negativer Proben nochmals erhöhte und der geometrische Mittelwert der Keimzahlen nun stärker absank (s. Abb. 14). Aus dem Verhalten der Kurven des pH-Wert-Verlaufs und des NaCl-Gehaltes (s. Abb. 16 und 17) ergab sich kein Hinweis auf die Ursache des um die 9. Woche einsetzenden Abfallens der Zahl an Koagulase-positiven Staphylokokken.

Mit einem Verschwinden der Koagulase-positiven Staphylokokken aus Steppenkäse ist somit ungefähr nach einem halben Jahr zu rechnen. Ein Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren zeigt, daß dieser Befund dem von WALKER et al. (1961) für Colby erhobenen am nächsten kommt. Für Cheddar beschrieben ROUGHLEY und McLEOD (1961) ein Verschwinden nach 70 Tagen, während TUCKEY et al. (1964) bei Hart- und Schnittkäsen das altersbedingte Verschwinden nicht beobachteten. In Parmesan war die Zeit des Überlebens auf konstanter Keimzahlhöhe mit 7 Monaten deutlich länger (THOMPSON und MARTH, 1974). Eine Vermehrung, wie von SOMM (1970) für Camembert beschrieben, kann ausgeschlossen werden und wurde auch bei keiner anderen Schnitt- und Hartkäseuntersuchung festgestellt (s. 2.3.5).

Bei den Untersuchungen auf anaerobe Sporenbildner in Gouda und Steppenkäse wurde in den Erhebungen eine Kontaminationsrate von 83 % ermittelt. 97 % der Proben enthielten weniger als 10^2 Sporen/g, eine Goudaprobe enthielt $1,1 \times 10^3$ /g. Gouda erwies sich regelmäßiger (92 %) kontaminiert als Steppenkäse, wo nur in 50 % der Proben Sporen in einer Größenordnung bis 10/g nachgewiesen werden konnten.

Hinweise auf das Vorliegen von Sporen von Cl. perfringens lagen, wie im übrigen auch in der Verlaufsuntersuchung, nicht vor.

Die ermittelten Kontaminationsraten liegen über den von KORHONEN et al. (1977) für finnischen Emmentaler (50 %) angegebenen und auch über dem von OTTE (1976) genannten Wert von 53 % für Schnittkäse. Allerdings werden in den eigenen Untersuchungen die von KORHONEN et al. (1977) genannten Sporenzahlen von max. $5 \times 10^5/g$ unterschritten. Die Befunde von EL-BASSIONY (1980) und MEHRAN et al. (1975) über das doch relativ häufige Auftreten von Cl. perfringens beziehen sich auf regionale Käsespezialitäten in Ägypten bzw. dem Iran. Ihre fehlende Entsprechung in den eigenen Untersuchungen, die vor allem deutsche und dänische Schnittkäse betreffen, kann in herstellungs- und sortenbedingten Unterschieden begründet sein.

Bei Korrelationsberechnungen ergaben sich keine Beziehungen zu den geprüften chemischen Parametern.

Während der Verlaufsuntersuchung an Steppenkäse waren Sporen schon in der vorgereiften Milch und der Kesselmilch vorhanden, was nach der unter 2.2.1 geschilderten Resistenz gegenüber Pasteurisierungstemperaturen zu erwarten war. In derselben Größenordnung ($\bar{x}_g$ 10/g) erfolgte ihr Nachweis im Käse, die bis zur letzten Untersuchung nach 18 - 23 Wochen annähernd konstant blieb (s. Abb. 14). Was die Maximalwerte und die Anzahl der negativen Proben betrifft, waren die Ergebnisse allerdings Schwankungen unterworfen (s. Tab. 10). Da diese Schwankungen aber keinerlei einheitliche Entwicklung im Sinne einer Reduktion oder einer Vermehrung der anaeroben Sporenbildner erkennen ließen, dürften sie allein auf die heterogene Verteilung dieser Keime im Käse zurückgehen. Somit zeigten sich anaerobe Sporenbildner völlig inert gegenüber reifungsbedingten Veränderungen. Mit ihrem Verschwinden aus Steppenkäse mit zunehmendem Alter kann nicht gerechnet werden (s. Abb. 14).

In den Erhebungen ergab sich für die Enterobacteriaceae eine Kontaminationsrate von 68 %. Steppenkäse erwiesen sich mit 90 % stärker kontaminiert als Gouda mit 61 %. Ein Vergleich mit den Angaben in Tab. 6 zeigt, daß solche Kontaminationsraten bei der Käseuntersuchung eher die Regel sind. Was die Keimzahlhöhe betrifft (Abb. 4), scheinen die eigenen Ergebnisse niedriger zu liegen als die von OTTE (1976) errechneten Mittelwerte.

Zu Beginn der Verlaufsuntersuchung an Steppenkäse wurden Enterobacteriaceae aus der vorgereiften Milch einer von 3 Chargen und der Kesselmilch von 2 von 3 Chargen isoliert. Das bestätigt die von BRANDL (1984), BUSSE (1981) und DOMMETT (1970) gemachte Beobachtung über die Häufigkeit der Frühkontamination.

Bei der ersten Untersuchung nach dem Pressen erwiesen sich alle 10 Steppenkäse, auch die aus der negativen Kesselmilch, als kontaminiert (s. Tab. 10), und zwar mit einer mittleren Keimzahl von $1,3 \times 10^3$ /g. Somit hatte während der Käseherstellung ein Keimzahlanstieg in einzelnen Käsen um bis zu 4 Zehnerpotenzen stattgefunden. Dieser Anstieg liegt höher als die unter 2.3.7 aus dem Schrifttum zusammengestellten Werte, die allerdings ausschließlich an coliformen Keimen ermittelt wurden.

Auch in den ersten beiden Tagen der Reifung, d. h. während des Salzbadens, erhöhte sich die Zahl der Enterobacteriaceae noch etwas, fiel dann aber bis zur 3. Untersuchung am 14. Tag auf einen Wert knapp unter der Keimzahl des 1. Tages (s. Abb. 15). Damit zeigten Enterobacteriaceae eine ähnliche, vom Salzen weitgehend unbeeinflusste Entwicklung, wie die Gesamtkeimzahl und die Enterokokken (vgl. Abb. 11 und 13).

Bei der 4. Untersuchung (am 28. Tag) waren immer noch alle 10 Steppenkäse positiv, es hatte sogar wieder eine Vermehrung stattgefunden und der Maximalwert vom 3. Tag wurde annähernd erreicht. Eine so deutliche Vermehrung zu diesem späten Zeitpunkt nach der Herstellung zeigten unter den bei der Verlaufsuntersuchung bestimmten Keimen nur die Enterobacteriaceae. Nach dem 28. Tag setzte bis zur 5. Untersuchung nach 9 Wochen eine starke Reduktion ihrer Zahlen ein (s. Abb. 15) und erste negative Ergebnisse traten auf (s. Tab. 10). Da dieser Keimzahlabfall parallel zu einem deutlichen pH-Anstieg erfolgte (s. Abb. 16) und auch der NaCl-Gehalt (s. Abb. 17) keine Besonderheiten aufwies, ist es unwahrscheinlich, daß diese Parameter für die Reduzierung verantwortlich sind.

Im Zeitraum bis zur 6. Untersuchung (nach 18 bis 23 Wochen) war wieder eine Vermehrung zu beobachten, die in der Hauptsache von den Coliformen (44 °C) getragen wurde. In den eigenen Untersuchungen konnten somit die Angaben von FRYER

(1976), BUCH KRISTENSEN (1970) und DOMMETT (1974), die bei dem Steppenkäse verwandten Sorten ein völliges Absterben der Coliformen (keine Daten für Enterobacteriaceae) im Verlauf der Reifung beobachteten, für Steppenkäse selbst nicht bestätigt werden. Mit einem Verschwinden der Enterobacteriaceae aus Steppenkäse bis zur 23. Lagerungswoche ist also den eigenen Ergebnissen folgend nicht zu rechnen.

Die Bestimmung der coliformen Keime bei einer Bebrütungstemperatur von 44°C mit dem unter 3.2.9 geschilderten MPN-Verfahren (Prüfung auf Gasbildungsvermögen) ergab in den Erhebungen eine Kontaminationsrate von 61 %. Steppenkäse erwiesen sich mit 75 % häufiger belastet als Gouda mit 55 %. 90 % der Gouda und 88 % der Steppenkäse wiesen weniger als 5×10^3 coliforme Keime/g auf, die bei 44°C Gasbildung aus Lactose zeigten. Ein Vergleich mit der anschließenden Untersuchung sämtlicher Röhrchen auf VRB-Agar bei 44°C ergab, daß Keime aus je einem Gouda und Steppenkäse zwar Gasbildungsvermögen aufwiesen, aber Indol-negativ waren und kein Säurebildungsvermögen bei 44°C zeigten. Über das Vorkommen derartiger Stämme innerhalb der Spezies *Klebsiella pneumoniae* berichten STENZEL et al. (1972). Da nach EDWARDS und EWING (1972) 99,2 % aller *E. coli*-Stämme Indol bilden, wäre eine Zugehörigkeit der Isolate zu dieser Spezies zwar ebenfalls möglich, aber weniger wahrscheinlich. Die in den eigenen Untersuchungen ermittelte Kontaminationsrate weicht nicht wesentlich von den in Tab. 8 zusammengestellten Literaturangaben ab.

Zu Beginn der Verlaufsuntersuchung an Steppenkäse konnten coliforme Keime (44°C) nicht aus der vorgereiften Milch, aber aus der Kesselmilch von 2 der 3 geprüften Chargen isoliert werden (s. unter 2.3.7 die Angaben von BRANDL, 1984; BUSSE, 1981 und DOMMETT, 1970 zur Frühkontamination). Bei der 1. Käseuntersuchung nach dem Pressen erwiesen sich alle Steppenkäse als kontaminiert. Die Isolate aus einem Käse zeigten kein Gasbildungs-, aber Säure- und Indolbildungsvermögen. Auch hier wäre wie bei den oben erwähnten Gas-, aber nicht Indol-bildenden Stämmen an seltenere Sonderformen von *Klebsiella pneumoniae* (sog. *K. oxytoca*) oder an *E. coli* zu denken.

Dieses Ergebnis trat bei noch zwei weiteren Käsen während der Verlaufsuntersuchung auf und hätte bei alleiniger Auswertung nach dem Gasbildungsvermögen zur fälschlichen Beurteilung der entsprechenden Käse als frei von Coliformen geführt. Gegenüber dem Ergebnis der Kesselmilch betrug der Keimzahlanstieg 2 - 3 Zehnerpotenzen und entsprach damit den von GINZINGER und OSL (1983), WILLIS et al. (1982) sowie WINTERER (1976) an Schnittkäse gemachten Beobachtungen. Das geometrische Mittel des Keimzahlanstiegs der Coliformen, die bei 44 °C nur Säure- und Indolbildungsvermögen zeigten, fiel durchschnittlich um 1 Zehnerpotenz höher aus als das solcher Coliformen, die zusätzlich Gasbildungsvermögen zeigten (s. Tab. 10 und Abb. 15).

In den ersten beiden Tagen der Reifung (im Salzbad) erhöhte sich die Zahl der Coliformen (44 °C) weiter und sämtliche Käse enthielten nunmehr Keime mit und ohne Gasbildungsvermögen in gleicher Zahl (s. Abb. 15). Der Anstieg betrug dabei für die Gas-negativen mehr als 1,5 Zehnerpotenzen. Bei dieser Untersuchung überschritt der geometrische Mittelwert der Coliformen (44 °C) denjenigen der Enterobacteriaceae (s. Abb. 15). Nach ASPERGER (1976) sind solche Ergebnisse mit der Anpassung der Keime an Lactose, als einzigem im milchwirtschaftlichen Bereich in größerer Menge verfügbarem Kohlenhydrat, zu erklären. Coliforme würden sich demnach auf glucosehaltigen Medien, wie sie zum Nachweis der Enterobacteriaceae verwendet werden, bedingt durch die starke Adaptation, nicht optimal vermehren.

Bei der 3. Untersuchung (am 14. Tag) waren die Coliformenzahlen (44 °C) merklich gesunken und lagen nunmehr unter dem Wert der Enterobacteriaceae (s. Abb. 15). Ihr Abfallen war auch deutlich stärker ausgeprägt als bei letzteren und es ergaben sich erneut Probleme hinsichtlich des Gasbildungsvermögens. Die starke Reduzierung der Coliformen (44 °C) ist eventuell damit zu erklären, daß nach dem 3. Tag die Starterkulturen die Lactose weitgehend aufgebraucht haben (VAN SCHOUWENBURG-VAN FOEKEN et al., 1979) und die oben angeführten Adaptierungsmechanismen (ASPERGER, 1976) sich nunmehr negativ auswirkten.

Wie für die Enterobacteriaceae ergab sich auch für die Coliformen (44 °C)

ein leichtes Ansteigen zwischen dem 14. und dem 28. Tag (Isolate aus 2 Käsen wieder ohne Gasbildungsvermögen (s. Tab. 10)), das bis zur 5. Untersuchung (nach 9 Wochen) in ein deutliches Abfallen überging (s. Abb. 15). Von diesem Zeitpunkt an war keine nennenswerte Differenz hinsichtlich des Gasbildungsvermögens der Isolate mehr gegeben. Bei der 5. Untersuchung waren erstmals in 2 Käsen keine Coliformen (44 °C) mehr nachzuweisen (s. Abb. 15).

Wie aus den Ergebnissen der 6. Untersuchung hervorgeht, wurde der oben erwähnte Anstieg der Enterobacteriaceae nach 18 - 23 Wochen hauptsächlich von den Coliformen (44 °C) getragen (s. Abb. 15). Zu diesem Zeitpunkt betrug ihr Anteil an den Enterobacteriaceae bereits 78 % gegenüber 34 % bei der Untersuchung nach 9 Wochen.

Bei den vergleichenden Untersuchungen zwischen dem direkten Ansatz auf VRB-Agar und der MPN-Bestimmung in einem flüssigen Medium ergab sich in den niedrigen Keimzahlbereichen erwartungsgemäß eine Überlegenheit des MPN-Verfahrens (s. 3.3.1.8). So waren aufgrund der niedrigen Nachweisgrenze von 100 Keimen/g beim Direktansatz gegenüber 3/g bei Ermittlung der höchstwahrscheinlichen Keimzahl bei ersterem falsch-negative Ergebnisse zu registrieren. Wesentliche Differenzen hinsichtlich der Höhe der Keimzahlen in vergleichbaren Bereichen konnten nicht beobachtet werden, wenn auch, wie aus Tab. 10 hervorgeht, beim Direktansatz der geometrische Mittelwert der Probe 6 etwas höher lag. Andererseits würden bei Direktansatz die oben geschilderten, durch fehlendes Gasbildungsvermögen bedingten Probleme entfallen.

Zum Ergebnis der Korrelationsberechnungen ist zusammenfassend zu sagen, daß hohe Keimzahlen an Enterobacteriaceae signifikant mit einer hohen Gesamtkeimzahl und einem niedrigen Käsealter korrelierten. Die Coliformen (44 °C) verhielten sich gleich. Daß Enterobacteriaceae und Coliforme (44 °C) in älteren Käsen in geringerer Zahl nachweisbar sind, ging auch aus der Verlaufsuntersuchung hervor. Auffallend ist, daß, wie auch schon bei der Besprechung der Verlaufsuntersuchung erwähnt, keine Beziehung zu den chemischen Parametern gegeben war.

Bei den Ergebnissen der chemischen Parameter interessierten weniger die

absoluten Werte als die Beziehungen zur bakteriologischen Beschaffenheit bei den Erhebungen sowie ihre Veränderungen während der Verlaufsuntersuchung. Auf eine detaillierte Besprechung soll daher verzichtet werden. Im übrigen entwickelten sich, wie aus den Abb. 16 und 17 zu entnehmen ist, alle Parameter erwartungsgemäß, abgesehen von geringen Schwankungen, die aber methodisch bedingt sind.

5. Zusammenfassung

1. Im ersten Versuchsabschnitt wurden an 42 Schnittkäseproben der Sorten Gouda und Steppenkäse Erhebungen über deren bakteriologische Beschaffenheit durchgeführt und die chemischen Parameter pH-Wert, Trockenmasse, Fettgehalt in der Trockenmasse und NaCl-Gehalt bestimmt.

Der geometrische Mittelwert für die Gesamtkeimzahl betrug $4,05 \times 10^6$ Keime/g. Hohe Gesamtkeimzahlen korrelierten signifikant mit höheren Werten für D-Streptokokken, Enterobacteriaceae und Coliformen (44°C) sowie mit hohen pH-Werten und niedrigen NaCl-Konzentrationen.

Cytochromoxidase-positive Keime konnten in 50 % der Proben nicht nachgewiesen werden, 94 % der Proben enthielten unter 5×10^3 Keime/g. Beziehungen zu anderen Parametern fehlten.

D-Streptokokken wurden aus 59 % der Proben isoliert, 93 % der Proben enthielten weniger als 5×10^3 Keime/g. Käse höheren Alters sowie mit höheren pH-Werten enthielten mehr D-Streptokokken als die übrigen. Nach Wiederbelebungen wurden die Keime in 72 % der Proben nachgewiesen; 87 % der Proben enthielten weniger als 5×10^3 Keime/g. Beziehungen zu den chemischen Parametern sowie zum Alter fehlten nunmehr.

B. cereus konnte nur aus einer Probe (100/g) isoliert werden.

Koagulase-positive Staphylokokken waren in 61 % der Proben nachweisbar, wobei 97 % weniger als 6×10^2 Keime/g enthielten. Beziehungen zu den chemischen Parametern sowie zum Alter fehlten.

Anaerobe Sporenbildner fanden sich in 81 % der Proben, 97 % enthielten unter 100 Sporen/g. Es konnte keine Beziehung zu den chemischen Parametern oder zum Alter festgestellt werden.

Enterobacteriaceae wurden aus 68 % der Proben isoliert, 97 % enthielten unter 5×10^4 Keime/g. Es ergab sich nur eine Beziehung zu niedrigem Käsealter.

Coliforme Keime (44°C) konnten im MPN-Verfahren sowie im Direktansatz in 61 % der Proben nachgewiesen werden, wobei mit dem MPN-Verfahren 89 % und im

Direktansatz 78 % der Proben unter 5×10^3 Keime/g enthielten. Auch hier bestand eine Beziehung zu niedrigem Käsealter.

2. Im zweiten Versuchsabschnitt wurden Verlaufsuntersuchungen an 10 Steppenkäsen aus 3 verschiedenen Chargen einer Molkerei durchgeführt. Jeder Käse wurde im Verlauf der Herstellung und Reifung sechsmal bis zur 18. - 23. Woche untersucht.

Die Gesamtkeimzahl stieg während des Herstellungsprozesses bis nach dem Salzbad um ca. 2,5 Zehnerpotenzen und sank bis zur letzten Untersuchung um ca. 1 Zehnerpotenz ab.

Die Zahl der regelmäßig auch aus der Kesselmilch zu isolierenden Cytochrom-oxidase-positiven Keime verzehnfachte sich zunächst im Verlauf der Produktion, sank aber dann bis zur letzten Probe um über 3 Zehnerpotenzen.

D-Streptokokken konnten erst nach dem Pressen isoliert werden. Ihre Zahl erreichte nach dem Salzen ein Maximum und verringerte sich bis zum 28. Tag um ca. 1 Zehnerpotenz. Einem relativ deutlichen Anstieg zwischen 4. und 9. Woche folgte eine leichte Abnahme. Mit Wiederbelebung lag ihre Keimzahl nach dem Pressen um mehr als 1 Zehnerpotenz über der im Direktansatz ermittelten, verringerte sich aber dann bis zum 28. Tag kontinuierlich. Danach begann ein leichter Anstieg, der sich auch über die 9. Woche hinaus fortsetzte.

B. cereus konnte nur aus einem Käse bei einer einzigen Untersuchung mit einer Keimzahl von 5×10^2 /g isoliert werden.

Koagulase-positive Staphylokokken wurden in der Kesselmilch einer der 3 Chargen und nach Abschluß der Produktion in jedem Käse gefunden. Ihr Ausgangswert verringerte sich um 1 Zehnerpotenz in den ersten beiden Wochen, blieb dann bis zur 9. Woche etwa konstant und fiel danach deutlich ab. Zwei Käse enthielten zu diesem Zeitpunkt noch 4 Keime/g, die anderen waren negativ.

Anaerobe Sporenbildner waren von der Kesselmilch bis zur letzten Untersuchung regelmäßig mit einer konstanten Sporenzahl von < 10 /g nachweisbar.

Enterobacteriaceae und Coliforme (44°C) waren in der Kesselmilch von 2 der 3 Chargen nachzuweisen und erreichten ihr Maximum nach dem Salzbad. Einem

deutlichen Abfall der Keimzahlen bis zur 9. Woche, nur unterbrochen von erhöhten Werten nach vier Wochen, folgte bei der letzten Untersuchung ein leichter Anstieg.

Summary

Bacteriological quality of semi-hard cheese: investigations of commercially available samples and during production and ripening in relation to some chemical parameters

1. In the first section of the experiments 42 samples of the cheese varieties Gouda and Steppenkäse were examined for their bacteriological quality and the chemical parameters: pH, dry matter, fat in dry matter and content of sodium chloride.

The geometric mean of the mesophilic aerobic plate count was 4.05×10^6 bacteria/g. High total counts correlated significantly with higher values for D-Streptococci, enterobacteriaceae and coliforms (44°C) as well as a high pH and low concentrations of sodium chloride.

Cytochromoxidase positive bacteria could not be detected in 50 % of the samples; 94 % contained less than 5×10^3 bacteria/g. There were no correlations with the other parameters tested.

D-Streptococci were found in 59 % of the samples; 93 % of the samples contained less than 5×10^3 bacteria/g. More ripened cheeses and cheeses with a higher pH tended to contain high counts. After resuscitation D-Streptococci were detected in 72 % of the samples; 87 % contained less than 5×10^3 bacteria/g. There were no correlations with chemical parameters or age of the cheese varieties.

B. cereus was isolated from one sample only (100/g).

Coagulase positive staphylococci were recovered from 61 % of the samples; 97 % contained less than 5×10^2 bacteria/g. Correlations with chemical parameters or age were not found.

Anaerobic spore formers were present in 81 % of the samples; 97 % of the samples contained less than 100 spores/g. No correlations with chemical parameters or age could be found.

Enterobacteriaceae were isolated from 68 % of the samples; 97 % contained less than 5×10^4 bacteria/g. Correlations were found with less ripened cheese but not with chemical parameters.

Coliforms (44 °C) could be detected in 61 % of the samples both with the MPN technique and direct plating. 89 % of the samples (MPN technique) and 78 % (direct plating) contained less than 5×10^3 bacteria/g. A correlation was found with less ripened cheese.

2. In the second part of the experiments, 10 cheeses of the variety Steppenkäse from 3 different lots of a dairy were investigated. Samples were chosen six times during manufacture and ripening until the 18th to 23rd week.

The mesophilic aerobic plate count first increased up to the stage of the brine bath for approximately $2,5 \log 10$, but decreased tenfold between the brine bath and the last test.

The number of the cytochromoxidase positive bacteria, isolated from all samples including the vat milk, increased tenfold during manufacture, but dropped over $3 \log 10$ in the last sample tested.

D-Streptococci were first detected after pressing of the cheese, reached their highest number after salting and decreased nearly tenfold until the 28th day. A relatively large increase between the 4th and 9th week was followed by a slight drop. Resuscitation increased the count after pressing nearly $1 \log 10$ compared with the count reached by direct plating. After a continuous decrease up to the 28th day there was a slight increase, which continued beyond the 9th week.

B. cereus could be isolated once from one cheese only (5×10^2 /g).

Coagulase positive staphylococci were found in the vat milk of one of the 3 lots and in every cheese after manufacture. The initial count dropped $1 \log 10$ in the first two weeks, remained nearly constant up to the 9th week and dropped significantly afterwards. At this stage, two cheeses still contained 4 bacteria/g; the others were negative.

Anaerobic spore formers were detected continuously with a constant spore

count of $< 10/g$ from the vat milk up to the last test.

Enterobacteriaceae as well als coliforms ($44^{\circ}C$) were isolated from the vat milk of 2 of the 3 lots and reached highest numbers after salting. After a significant decrease up to the 9th week, interrupted by slightly higher counts after 4 weeks, counts of both groups increased in the last samples tested.

6. Literaturverzeichnis

- AHMED, A. A.-H., M. K. MOUSTAFA und E. H. MARTH (1983):
Incidence of *Bacillus cereus* in milk and some milk products.
J. Food Protec. 46, 126 - 128.
- ASATOOR, A. M., A. J. LEVI und M. D. MILNE (1963):
Tranylcypromine and cheese.
Lancet II, 733 - 734.
- ASPERGER, H. (1974):
Zum Nachweis Koagulase-positiver Staphylokokken in Milch und Milchprodukten.
Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 39, 117 - 122.
- DERSELBE (1976):
Enterobacteriaceen und Enterokokken als Hygieneindikatoren.
Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 49, 261 - 268.
- DERSELBE (1977):
Probenaufbereitung von festen Milchprodukten für mikrobiologische Analysen.
Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 52, 175 - 177.
- ASPERGER, H. und H. WINTERER (1978):
Beitrag zur Methodik der Wiederbelebung beim Nachweis subletal geschädigter
Enterobacteriaceae in Milchpulver.
Wien. Tierärztl. Mschr. 65, 241 - 246.
- ASPERGER, H., E. BRANDL und A. MAGGI (1983):
Über den Einfluß von Produktionshygiene, Transport- und Lagerungsbedingungen
auf die sensorische und mikrobiologische Beschaffenheit von Mozzarella-Käse.
Arch. Lebensmittelhyg. 34, 14 - 24.
- BECK, G. (1972):
Psychrotrophe Organismen in Milch.
Arch. Lebensmittelhyg. 23, 278 - 281.
- BECK, G. und T. MANTEL (1974):
Zur mikrobiologischen Untersuchung von Weichkäse.
Vortrag gehalten auf der 16. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittel-
hygiene in Garmisch-Partenkirchen, Tagungsbericht p. 65 - 69.

BECKER, F. (1980):

Nitratgehalt in Schnittkäse bei unterschiedlichem Salpeterzusatz und verschiedener Reifung.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 63, 101 - 104.

BEUCHAT, L. R. und R. V. LECHOVICH (1968):

Effect of salt concentration in the recovery medium on heat-injured *Streptococcus faecalis*.

Appl. Microbiol. 16, 772 - 776.

BLACKWELL, B. (1963 a):

Tranylcypromine.

Lancet II, 414.

DERSELBE (1963 b):

Hypertensive crisis due to monoamine-oxidase inhibitors.

Lancet II. 849 - 851.

BLACKWELL, B. und L. A. MABBITT (1965):

Tyramine in cheese related to hypertensive crisis after monoamine-oxidase inhibition.

Lancet II, 938 - 940.

BRANDL, E. (1976):

Zur Frage der hygienischen Beurteilung von Lebensmitteln auf Grund mikrobiologischer Endproduktspezifikationen.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 49, 255 - 259.

BRANDL, E., H. ASPERGER und R. PFLEGER (1978):

Über die heterogene Verteilung coliformer Keime in packreifem Camembertkäse.

XX. Int. Milchwirt. Congr. Kurzmitteilungen p. 837 - 838.

Paris, Frankreich.

BRANDL, E. (1979):

Aspekte mikrobiologischer Grenzwerte für Käse.

Deutsche Milchwirtschaft 30, 373 - 378.

DERSELBE (1984):

Aktuelle mikrobiologisch-hygienische Aufgabenstellungen auf dem Gebiet der Käseproduktion.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 78, 19 - 24.

BROOKS, D. E. J. (1974):

Enterokokken als Fäkal-Indikatoren bei Milchprodukten.

XIX. Int. Milchwirt. Congr. 1D, p. 410 - 411.

Neu Dehli, Indien.

BRYAN, F. L. (1969 a):

Infections due to miscellaneous microorganisms.

in: RIEMANN, H. (Hrsg.), Food-borne infections and intoxications,
Chapter VI, p. 223 - 287.

Academic Press, New York, London.

DERSELBE (1969 b):

What the sanitarian should know about *Clostridium perfringens* foodborne
illness.

J. Milk Food Technol. 32, 381 - 389.

DERSELBE (1972):

Emerging foodborne diseases.

I. Their surveillance and epidemiology.

J. Milk Food Technol. 35, 618 - 625.

BUCH KRISTENSEN, J. M. (1970):

Die Entwicklung verschiedener Bakterien im Danbo-Käse.

XVIII. Int. Milchwirt. Kongr. Kurzmitteilungen 1D, p 365.

Sydney, Australien.

BUSSE, M. (1980):

Coliforme Keime in Käse.

Wissenschaftlicher Jahresbericht p. 81 - 83.

Süddeutsche Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
Weihenstephan.

Technische Universität München.

DERSELBE (1981):

Coliforme Keime in Käse.

Wissenschaftlicher Jahresbericht p. 79 - 80.

Angaben wie für 1980.

BUSTA, F. F. und J. J. JEZESKI (1963):

Effect of sodium chloride concentration in an agar medium on growth of
heat-shocked *Staphylococcus aureus*.

Appl. Microbiol. 11, 404 - 407.

CHORDASH, R. A. und N. F. INSALATA (1978):

Incidence and pathological significance of *Escherichia coli* and other
sanitary indicator organisms in food and water.

Food Technol. 32 (10), 54 - 63.

- CLARK, C. W., L. D. WITTER und Z. J. ORDAL (1968):
Thermal injury and recovery of *Streptococcus faecalis*.
Appl. Microbiol. 16, 1764 - 1769.
- CLARK, W. S. Jr. und G. W. REINBOLD (1967):
The low temperature microflora of young Cheddar cheese.
J. Milk Food Technol. 30, 54 - 58.
- COLLINS-THOMPSON, D. L., I. E. ERDMAN, M. E. MILLING, D. M. BURGNER,
U. T. PURVIS, A. LOIT und R. M. COULTER (1977):
Microbiological standards for cheese: Survey and viewpoint of the
Canadian Health Protection Branch.
J. Food Protec. 40, 411 - 414.
- COOKE, B. C., B. R. JOSEPHSON und L. M. NORRIS (1982):
An evaluation of resuscitation modifications to the standard presumptive
coliform analysis for the recovery of coliforms and *E. coli* from dairy products.
Aust. J. Dairy Technol. 37, 149 - 150.
- COVENTRY, M. J., A. J. HILLIER und G. R. JAGO (1978):
The metabolism of pyruvate and citrate in the thermophilic cheese starter
Streptococcus faecium (*Streptococcus durans*).
Aust. J. Dairy Technol. 33, 148 - 154.
- DAHLBERG, A. C. und F. V. KOSIKOWSKY (1949):
The bacterial count, tyramine content and quality score of commercial American
Cheddar and stirred curd cheese made with *Streptococcus faecalis* starter.
J. Dairy Sci. 32, 630 - 636.
- DEIBEL, R. H. und J. H. SILLIKER (1963):
Food-poisoning potential of the enterococci.
J. Bacteriol. 85, 827 - 832.
- DEVOYOD, J. J. (1969):
La flore microbienne du fromage de Roquefort.
III. Les entérocoques.
Le Lait 49, 637 - 650.
- DILGER, G. (1981):
Erfahrungen in der Schnittkäseerei in der Bundesrepublik Deutschland
aus der Sicht der Praxis.
Deutsche Molkerei-Zeitung 102, 328 - 334.

DEOGLAS, H. M. G., J. HUISMAN und J. P. NATER (1967):

Histamine intoxication after cheese.

Lancet II, 1361 - 1362.

DOMMETT, T. W. (1970):

Studies on coliform organisms in Cheddar cheese.

Aust. J. Dairy Technol. 25, 54 - 61.

DERSELBE (1974):

Variation in levels of coliforms and Escherichia coli type I in Queensland Cheddar cheese.

Aust. J. Dairy Technol. 29, 198 - 203.

DONNELLY, C. B., L. A. BLACK und K. H. LEWIS (1964):

Occurrence of coagulase-positive staphylococci in Cheddar cheese.

Appl. Microbiol. 12, 311 - 315.

DRION, E. F. und D. A. A. MOSSEL (1972):

Mathematical-ecological aspects of the examination for enterobacteriaceae of foods processed for safety.

J. appl. Bacteriol. 35, 233 - 239.

DUITSCHAEVER, C. L. und D. C. JORDAN (1974):

Development of resistance to heat and sodium chloride in Streptococcus faecium recovering from thermal injury.

J. Milk Food Technol. 37, 382 - 386.

EDWARDS, P. R. und W. H. EWING (1972):

Identification of enterobacteriaceae.

Burgess Publishing Company, Minneapolis.

EFTHYMIU, C. J., P. BACCASH, V. J. LABOMBARDI und D. S. EPSTEIN (1974):

Improved isolation and differentiation of enterococci in cheese.

Appl. Microbiol. 28, 417 - 422.

EITENMILLER, R. R., P. E. KOEHLER und J. O. REAGAN (1978):

Tyramine in fermented sausages: factors affecting formation of tyramine and tyrosine decarboxylase.

J. Food Sci. 43, 689 - 693.

EL-BASSIONY, T. A. (1980):

Occurrence of Clostridium perfringens in milk and dairy products.

J. Food Protec. 43, 536 - 537.

ELLIOT, J. A. und G. E. MILLARD (1976):

A comparison of two methods for counting coliforms in cheese.

Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 9, 95 - 97.

zit. nach: KORNACKI, J. L. und E. H. MARTH (1982 b).

ERGÖLLO, E. (1982):

Untersuchung über den Gehalt an Enterokokken im weißen Käse.

XXI. Int. Milchwirt. Kongr. Kurzmitteilungen I.1, p. 479 - 480.

Moskau, UdSSR.

FAHMY, T. K. und L. M. YOUSSEF (1974):

Incidence of coliforms as gas formers in Damietta cheese.

Agricultural Research Review 52, 169 - 174.

zit. nach: Dairy Sci. Abstr. 38, 543.

FANTASIA, L. D., L. MESTRANDREA, J. P. SCHRADE und J. YAGER (1975):

Detection and growth of enteropathogenic *Escherichia coli* in soft ripened cheese.

Appl. Microbiol. 29, 179 - 185.

FITZ, F. und J. J. OWENS (1978):

'*Staphylococcus aureus*' in Cheddar cheese.

Process Biochemistry 13, 2 - 8.

zit. nach: Milchwissenschaft 35, 254.

FOSTER, A. R. (1963):

Tranylcypromine and cheese.

Lancet II, 587.

FOSTER, E. M., J. C. GAREY und W. C. FRAZIER (1942):

The bacteriology of Brick cheese. III. The bacteria involved in ripening.

J. Dairy Sci. 25, 323 - 333.

FRANK, J. F., E. H. MARTH und N. F. OLSON (1977):

Survival of enteropathogenic and non-enteropathogenic *Escherichia coli* during the manufacture of Camembert cheese.

J. Food Protec. 40, 835 - 842.

DIESELBEN (1978):

Behaviour of enteropathogenic *Escherichia coli* during manufacture and ripening of Brick cheese.

J. Food Protec. 41, 111 - 115.

FRANK, J. F. und E. H. MARTH (1978):

Survey of soft and semisoft cheese for presence of fecal coliforms and serotypes of enteropathogenic *Escherichia coli*.

J. Food Protec. 41, 198 - 200.

FRYER, T. F. (1974):

Die Kontrolle coliformer Bakterien in Gouda Käse.

XIX. Int. Milchwirt. Kongr. Kurzmitteilungen 1D, p. 601 - 602.

Neu Dehli, Indien

DERSELBE (1976):

The control of coliform organisms in Gouda cheese.

New Zealand J. Dairy Sci. Technol. 10, 8 - 11.

GALESLOOT, T. E. und F. HASSING (1983):

Effect of nitrat and chlorate and mixtures of these salts on the growth of coliform bacteria. Results of model experiments related to gas defects in cheese.

Neth. Milk Dairy J. 37, 1 - 10.

GAYA, P., M. MEDINA und M. NUNEZ (1983):

Accelerated decrease of enterobacteriaceae counts during ripening of raw milk Machengo cheese by lactic culture inoculation.

J. Food Protec. 46, 305 - 308.

GERBER, Fettbestimmung nach (1963):

Milchwirtschaftliche Einheitsmethode Nr. 1.

Milchwissenschaft 18, 514 - 515.

GIANNELLA, R. A. und L. BRASILE (1979):

A hospital food-borne outbreak of diarrhea caused by *Bacillus cereus*; clinical, epidemiologic, and microbiologic studies.

J. Infect. Dis. 139, 366 - 370.

GIBBS, B. M. und B. FREAME (1965):

Methods for the recovery of clostridia from foods.

J. appl. Bacteriol. 28, 95 - 111.

GILBERT, R. J. und A. J. TAYLOR (1975):

Das Auftreten von *Bacillus cereus* Lebensmittelvergiftungen in Großbritannien.

Arch. Lebensmittelhyg. 26, 38.

GILLES, G., J. JOUGLARD und M. SEBALD (1974):

Sur une épidémie de botulisme humain. Enquête et hypothèses étiologiques:
Rôle possible du fromage et des paillons.

Bull. Acad. Vet. France 47, 165 - 174.

GILLILAND, S. E. und M. L. SPECK (1972):

Interactions of food starter cultures and pathogens: lactic streptococci
versus staphylococci and salmonellae.

J. Milk Food Technol. 35, 307 - 310.

GINZINGER, W. (1978):

Einige Ergebnisse bakteriologischer Untersuchungen von
Kesselmilch, Kulturen und Emmentalerkäsen.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 57, 275 - 280.

DERSELBE (1979 a):

Zur Keimverteilung im Käse.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 58, 53 - 56.

DERSELBE (1979 b):

Mikrobiologische und biochemische Untersuchungen an 24-stündigen
Emmentalerkäsen.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 61, 279 - 281.

DERSELBE (1981):

in: Jahresbericht der Bundeslehr- und Versuchsanstalt für
Alpenländische Milchwirtschaft Rotholz.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 72, 204 - 209.

GINZINGER, W. und F. OSL (1983):

Mikrobiologische und biochemische Vorgänge bei Schnittkäse.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 76, 243 - 245.

GLATZ, B. A. und S. A. BRUDVIG (1980):

Survey of commercially available cheese for enterotoxigenic
Escherichia coli.

J. Food Protec. 43, 395 - 398.

GOEPFERT, J. M., N. F. OLSON und E. H. MARTH (1968):

Behaviour of *Salmonella typhimurium* during manufacture and curing
of Cheddar cheese.

Appl. Microbiol. 16, 862 - 866.

- GOEPFERT, J. M., W. M. SPIRA und H. U. KIM (1972):
Bacillus cereus: Food poisoning organism. A review.
J. Milk Food Technol. 35, 213 - 227.
- HAHN, H., A. TOLLE und I. OTTE (1978):
Milch und Milchprodukte aus bakteriologisch-hygienischer Sicht
-Pathogene Mikroben- .
Kieler Milchwirtsch. Forschungsberichte 30, 287 - 294.
- HALL, H. E. und G. H. HAUSER (1966):
Examination of feces from food handlers for salmonellae, shigellae,
enteropathogenic Escherichia coli and Clostridium perfringens.
Appl. Microbiol. 14, 928 - 933.
- HALL, H. E., D. F. BROWN und K. H. LEWIS (1967):
Examination of market foods for coliform organisms.
Appl. Microbiol. 15, 1062 - 1069.
- HALLMANN, L. und F. BURKHARDT (1974):
Klinische Mikrobiologie. Ausgewählte Untersuchungsmethoden für das bakterio-
logische, serologische, virologische und parasitologische Laboratorium.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- HANKE (1956):
Steppenkäse.
Deutsche Molkerei-Zeitung 77, 265.
- HARGROVE, R. E., F. E. McDONOUGH und W. A. MATTINGLY (1969):
Factors affecting survival of salmonella in Cheddar and Colby cheese.
J. Milk Food Technol. 32, 480 - 484.
- HAUSCHILD, A. H. W., R. J. GILBERT, S. M. HARMON, M. F. O'KEEFFE und
R. VAHLEFELD (1977):
ICMSF methods studies. VIII. Comparative study for the enumeration
of Clostridium perfringens in foods.
Can. J. Microbiol. 23, 884 - 892.
- HEESCHEN, W., G. SUHREN und A. TOLLE (1981):
Bakteriologisch-Biochemische Kriterien der Milch und ihre
Beziehungen zu Frische, Haltbarkeit und Qualität.
Dtsch. Milchwirtsch. 32, 1660 - 1664.

- HEINRICH, C. (1968):
Eigenschaften der Käse. II. Physikalische Eigenschaften der Käse.
in: SCHORMÜLLER, J. (Hrsg.), Handbuch der Lebensmittelchemie,
III./1. Tierische Lebensmittel Milch, Butter, Käse, p. 628 - 642.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- HESS, E. (1972):
Vorkommen und Bedeutung von Enterokokken in Milch.
Arch. Lebensmittelhyg. 23, 242 - 244.
- HILDEBRANDT, G. und K. KATSARAS (1981):
Vorkommen und Identifizierung von Clostridium perfringens
in Lebensmitteln tierischer Herkunft.
Fleischwirtschaft 61, 115 - 123.
- HOLBROOK, R. und J. M. ANDERSON (1980):
An improved selective and diagnostic medium for the isolation
and enumeration of Bacillus cereus in foods.
Can. J. Microbiol. 26, 753 - 759.
- HUTCHINSON, E. M. S. und J. TAPLIN (1978):
Bacillus cereus in food.
Food Technol. Australia 30, 329 - 332.
- IANDOLO, J. J., C. W. CLARK, L. BLUHM und Z. J. ORDAL (1965):
Repression of Staphylococcus aureus in associative culture.
Appl. Microbiol. 13, 646 - 649.
- IBRAHIM, G. F. (1977):
Detection and enumeration of coagulase positive staphylococci in dairy
products: 3. Evaluation of the performance of the strip method.
Aust. J. Dairy Technol. 32, 35 - 38.
- ICMSF (1974):
International Commission on Microbiological Specifications for Foods.
Microorganisms in foods 2: Sampling for microbiological analysis:
principals and specific applications.
University of Toronto Press, Toronto and Buffalo.
- IENISTEA, C., M. CHITU und A. ROMAN (1970):
Heat resistance in milk of some strains of group D streptococci from
pasteurized milk and the influence exerted on their growth by selective media.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. 215, 173 - 181.

INSALATA, N. F., J. S. WITZEMAN und F. C. A. SUNGA (1969):

Fecal streptococci in industrial processed foods - an incidence study.
Food Technol. 23 (10), 86 - 88.

Internationaler Milchwirtschaftsverband (1980):

Behaviour of pathogens in cheese.

IDF Doc. 122 (revised) 23 pp.

JENSEN, J. P., G. W. REINBOLD, C. J. WASHAM und E. R. VEDAMUTHU (1973):

Role of enterococci in Cheddar cheese:

growth of enterococci during manufacture and curing.

J. Milk Food Technol. 36, 613 - 618.

JONES, G. A., D. L. GIBSON und K.-J. CHENG (1967):

Coliform bacteria in Canadian pasteurized dairy products.

Can. J. publ. Hlth. 58, 257 - 264.

KAMMERLEHNER, J. (1970):

pH-Wert-Kennzahlen in den einzelnen Produktionsabschnitten beim Schnittkäse.

Deutsche Milchwirtschaft, Molkerei- und Käsezeitschrift 21, 2245 - 2246.

KATSARAS, K. und G. HILDEBRANDT (1979):

Ursachen bakterieller Lebensmittelvergiftungen:

Bacillus cereus-Toxine.

Fleischwirtschaft 59, 668 - 676.

KEOGH, B. P. (1971):

Reviews of the progress of dairy science. Sektion B.

The survival of pathogens in cheese and milk powder.

J. Dairy Res. 38, 91 - 111.

KIELWEIN, G. (1968):

Feststellung und Bewertung von Pseudomonaden in Milch.

Arch. Lebensmittelhyg. 19, 25 - 30.

DERSELBE (1970):

Milchhygiene - auch eine wirtschaftliche Notwendigkeit.

alimenta-Sonderausgabe 1970, 39 - 45.

DERSELBE (1971):

Die Isolierung und Differenzierung von Pseudomonaden aus Lebensmitteln.

Arch. Lebensmittelhyg. 22, 29 - 37.

DERSELBE (1975):

Die Bedeutung von *Ps. fluorescens* und von anderen gramnegativen Bakterien für die Entwicklung eines üblen Geruchs bei Emmentaler Käse ("Aerobierfäulnis") Deutsche Molkerei-Zeitung 96, 1112 - 1120.

DERSELBE (1977 a):

Zur Zusammensetzung der aeroben gramnegativen Flora von Anlieferungsmilch und deren Beziehung zu Milchprodukten.
alimenta 16, 41 - 48.

DERSELBE (1977 b):

Die Bedeutung des Vorkommens von Enterokokken in Käse.
Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 50, 45 - 53.

DERSELBE (1978):

Vorkommen und Bedeutung von Enterokokken in Milch und Milchprodukten.
Arch. Lebensmittelhyg. 29, 127 - 128.

KORHONEN, H., S. ALI-YRKKÖ und H. HAKKARAINEN (1977):

Über den Clostridiengehalt des finnischen Emmentalerkäses.
Meijeritieteellinen Aikakauskirja 35, 43 - 65.
zit. nach: Dairy Sci. Abstr. 40, 626.

KORNACKI, J. L. und E. H. MARTH (1982 a):

Fate of nonpathogenic and enteropathogenic *Escherichia coli* during the manufacture of Colby-like-cheese.
J. Food Protec. 45, 310 - 316.

DIESELBEN (1982 b):

Foodborne illness caused by *Escherichia coli*: A review.
J. Food Protec. 45, 1051 - 1067.

KOSIKOWSKY, F. V. und A. C. DAHLBERG (1948):

The growth and survival of *Streptococcus faecalis* in pasteurized milk American Cheddar cheese.
J. Dairy Sci. 31, 285 - 292.

KÜSTER, W. (o. J.):

Käse Lexikon. Rund um den Käse in der ganzen Welt.
Heinrichs Verlag, Hildesheim.

KUNDRAT, W. (1966):

Psychrophile Bakterien in Milch und Milchprodukten.
Arch. Lebensmittelhyg. 17, 160 - 162.

DERSELBE (1971):

Zur Bekämpfung der Spätblähung bei Hartkäsen auf biologischem Wege.
alimenta 10, 133 - 141, 167 - 180.

LIGHTBODY, L. G. (1962):

Coliform organisms in Queensland Cheddar cheese.

Queensland J. Agr. Sci. 19, 305 - 307.

zit. nach: KORNACKI, J. L. und E. H. MARTH (1982 b).

LOANE, P., E. NEWTON, H. JENSEN und K. HANSEN (1977):

Sampling programmes for quality assurance of dairy products;

2. A sampling programme for coliform-free Cheddar cheese.

Aust. J. Dairy Technol. 32, 92 - 94.

LOTT, G. (1972):

Taxonomie und Bedeutung psychrotropher Keime.

Arch. Lebensmittelhyg. 23, 265 - 268.

LÜBENAU-NESTLE, R. und H. MAIR-WALDBURG (1968):

Eigenschaften der Käse. III. Bakteriologie der Käse.

in: SCHORMÜLLER, J. (Hrsg.), Handbuch der Lebensmittelchemie,

III./1. Tierische Lebensmittel Milch, Butter, Käse, p. 643 - 687.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

LÜCK, H. und M. DUNKELD (1981):

Enterobacteriaceae in cheese.

South African J. Dairy Technol. 13, 9 - 14.

zit. nach: Dairy Sci. Abstr. 44, 38.

LÜND, H. und H. GASSER (1964):

Faecalstreptococci als Lebensmittelvergifter.

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 55, 144 - 149.

MAIR-WALDBURG, H. (1968):

Käseherstellung (I - III).

in: SCHORMÜLLER, J. (Hrsg.), Handbuch der Lebensmittelchemie,

III./1. Tierische Lebensmittel Milch, Butter, Käse, p. 534 - 574.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

DERSELBE (1974):

Handbuch der Käse, Käse der Welt von A - Z.

Eine Enzyklopädie.

Volkswirtschaftlicher Verlag, Kempten/Allgäu.

MARIER, R., J. G. WELLS, R. C. SWANSON, W. CALLAHAN und I. J. MEHLMAN (1973):
An outbreak of enteropathogenic *Escherichia coli* foodborne disease
traced to imported French cheese.

Lancet II, 1376 - 1378.

MARTI, F. (1973):

Bakteriologisch bedingte Lebensmittelvergiftungen.
(Praktische Erfahrungen im Kanton Bern)

alimenta 12, 171 - 187.

MARTIN, J. H. (1974):

Significance of bacterial spores in milk.

J. Milk Food Technol. 37, 94 - 98.

MASSON, A. (1977):

La qualité du fromage suisse "Vacherin Mont-d'Or".

Le Lait 57, 271 - 277.

MATTICK, A. T. R. und P. M. F. SHATTOCK (1943):

Group D streptococci in English hard cheese.

Mon. Bull. Emergency Publ. Hlth. Lab. Serv. Lond. 2, 73 - 75.

zit. nach: Dairy Sci. Abstr. 5, 185.

MCLEOD, R. W., R. J. ROUGHLEY und J. RICHARDS (1962):

Staphylococcus aureus in Cheddar cheese.

Effect of numbers on survival.

Aust. J. Dairy Technol. 17, 54 - 56.

zit. nach: Dairy Sci. Abstr. 24, 399.

MEHRAN, M., M. BEHBOODI und A. ROUHBASKSH-KH (1975):

Microbial contamination of Iranian white cheese produced from raw milk.

J. Dairy Sci. 58, 784.

MICKELSEN, R., V. D. FOLTZ, W. H. MARTIN und C. H. HUNTER (1961):

The incidence of potentially pathogenic staphylococci in

dairy products at the consumer level. III. Cheese.

J. Milk Food Technol. 24, 324 - 345.

MIETH, H. (1961):

Untersuchungen über das Vorkommen von Enterokokken bei Tieren und Menschen.

II. Mitteilung: Ihr Vorkommen in Stuhlproben von gesunden Menschen.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. 183, 68 - 89.

DERSELBE (1962):

Untersuchungen über das Vorkommen von Enterokokken bei Tieren und Menschen.

III. Mitteilung: Die Enterokokkenflora in den Faeces von Rindern.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. 185, 47 - 52.

MIKOLAJCIK, E. M., J. W. KEARNEY und T. KRISTOFFERSEN (1973):

Fate of *Bacillus cereus* in cultured and direct acidified skimmilk and Cheddar cheese.

J. Milk Food Technol. 36, 317 - 320.

MOORE, B. (1955):

Streptococci and food poisoning.

J. appl. Bact. 18, 606 - 618.

MOSSEL, D. A. A., W. H. J. MENERINK und H. H. SCHOLTS (1962):

Use of a modified MacConkey agar medium for the selective growth and enumeration of enterobacteriaceae.

J. Bacteriol. 84, 381.

MOSSEL, D. A. A., M. VISSER und A. M. R. CORNELISSEN (1963):

The examination of foods for enterobacteriaceae using a test of the type generally adopted for the detection of salmonellae.

J. appl. Bact. 26, 444 - 452.

MOSSEL, D. A. A. (1964):

Eine mit dem Salmonella-Nachweis kommensurable Untersuchung von Lebens- und Futtermitteln auf Enterobacteriaceae.

Arch. Lebensmittelhyg. 15, 169 - 171.

DERSELBE (1967):

Ecological principles and methodological aspects of the examination of foods and feeds for indicator microorganisms.

J. Assoc. Off. Anal. Chem. 50, 90 - 104.

MOSSEL, D. A. A., M. J. KOOPMANN und E. JONGERIUS (1967):

Enumeration of *Bacillus cereus* in foods.

Appl. Microbiol. 15, 650 - 653.

MOSSEL, D. A. A., und H. M. VINCENTIE (1968):

Ecological studies on the enrichment of enterobacteriaceae occurring in dried foods in some currently used media.

in: KAMPELMACHER, E. H., M. INGRAM und D. A. A. MOSSEL:

The microbiology of dried foods. Proceedings of the sixth international symposium on food microbiology, p. 135 - 164.

Bilthoven, The Netherlands, Juni 1968.

MOSSEL, D. A. A. und M. A. RATTU (1970):

Rapid detection of sublethally impaired cells of enterobacteriaceae in dried foods.

Appl. Microbiol. 20, 273 - 275.

MOSSEL, D. A. A. und G. A. HARREWIJN (1972):

Les défaillances dans certains cas des milieux d'isolement des enterobacteriaceae des aliments et des médicaments secs.

alimenta 11, 29 - 30.

MOSSEL, D. A. A. und J. E. L. CORRY (1977):

Detection and enumeration of sublethally injured pathogenic and index bacteria in foods and water processed for safety.

alimenta-Sonderausgabe 1977, 19 - 34.

MOSSEL, D. A. A., P. G. H. BIJKER und I. EELDERINK (1978):

Streptokokken der Lancefield-Gruppe D in Lebensmitteln und Trinkwasser - Ihre Bedeutung, Erfassung und Bekämpfung.

Arch. Lebensmittelhyg. 29, 121 - 131.

MOURGUES, R., L. VASSAL, J. AUCLAIR, G. MOCQUOT und J. VANDEWEGHE (1977):

Origine et développement des bactéries coliformes dans les fromages à pâte molle.

Le Lait 57, 131 - 149.

MOURGUES, R., L. VASSAL und J. AUCLAIR (1974):

Lebensdauer und Wachstum coliformer Bakterien in Weichkäse.

XIX. Int. Milchwirt. Kongr. Kurzmitteilungen, 1D, p. 599 - 600.

Neu Dehli, Indien.

MUNDT, J. O. (1963):

Occurence of enterococci on plants in a wild environment.

Appl. Microbiol. 11, 141 - 144.

NAGUIB, M. M., M. M. SABBOUR und M. M. NOUR (1979 a):

The effect of salting rate and initial count of Salmonella typhi in Domiati cheese-milk on its longevity during pickling.

Arch. Lebensmittelhyg. 30, 150 - 151.

NAGUIB, M. M., M. A. NOUR und A. A. NOAMAN (1979 b):

Survival of Staphylococcus aureus in Ras cheese.

Arch. Lebensmittelhyg. 30, 227 - 228.

NAKAE, T. (1970):

Characterization and classification of psychrotrophic bacteria in milk by means of temperature-gradient incubation.

Milchwissenschaft 25, 161 - 167.

NIKODEMUSZ, I., M. BOJAN, V. HOCH, M. KISS und P. KISS (1963):

Das Vorkommen von *Bac. cereus* in Lebensmitteln.

Arch. Lebensmittelhyg. 14, 172 - 174.

OLSON, N. F. (1980):

Trends in cheese manufacture.

J. Dairy Sci. 64, 1063 - 1069.

ORMAY, L. und T. NOVOTNY (1970):

Über sogenannte unspezifische Lebensmittelvergiftungen in Ungarn.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 215, 84 - 89.

OTTE, I. (1976):

Zur bakteriellen Floraanalyse in Milch und Milchprodukten mit Hilfe eines miniaturisierten Testsystems.

Vet. Med. Diss., Berlin.

PARK, H. S., E. H. MARTH, J. M. GOEPFERT und N. F. OLSON (1970):

The fate of *Salmonella typhimurium* in the manufacture and ripening of low-acid Cheddar cheese.

J. Milk Food Technol. 33, 280 - 284.

PARK, H. S., E. H. MARTH und N. F. OLSON (1973):

Fate of enteropathogenic strains of *Escherichia coli* during the manufacture and ripening of Camembert cheese.

J. Milk Food Technol. 36, 543 - 546.

PARK, C. E., E. C. D. TODD, U. PURVIS und R. LAIDLEY (1974):

Disease traced to cheese.

Lancet I, 172 - 173.

PETRUSCHINA, L. I. und N. W. SAWJENKOWA (1981):

Über den Einfluß einiger Faktoren auf die Vermehrung von Staphylokokken bei der Gewinnung von Käsekorn.

Woprosy Pitanija 4, 56 - 59.

zit. nach: Milchwissenschaft 37, 183.

PFLEGER, R., H. ASPERGER und E. BRANDL (1978):

Coliforme Keime in Camembertkäse - Keimgehalt und Typenverteilung.

XX. Int. Milchwirt. Kongr. Kurzmitteilungen p. 834 - 835.

Paris, Frankreich.

PROVOST, P. J., O. L. ITTENSOHN, V. M. VILLAREJOS, G. J. A. ARGUEDAS
und M. R. HILLEMANN (1973):

Etiologic relationship of marmoset-propagated CR 326 hepatitis A virus
to hepatitis in man.

Proc. Soc. exp. Biol. Med. 142, 1257 - 1267.

zit. nach: MOSSEL, D. A. A., P. G. H. BIJKER und I. EELDERINK (1977).

RAMADAN, F. M. (1960):

Comparative studies on the detection of pollution of water, milk and ice-cream.

Appl. Microbiol. 8, 199 - 204.

RASH, K. E. und F. V. KOSIKOWSKY (1982):

Influence of lactic acid starter bacteria on enteropathogenic *Escherichia coli* in ultrafiltration prepared Camembert cheese.

J. Dairy Sci. 65, 537 - 543.

RAY, B. und M. L. SPECK (1973):

Enumeration of *Escherichia coli* in frozen samples after recovery from injury.

Appl. Microbiol. 25, 499 - 503.

DIESELBEN (1978):

Plating procedure for the enumeration of coliforms from dairy products.

Appl. Environ. Microbiol. 35, 820 - 822.

READ, A. E. A. und B. AURORA (1963):

Tranylcypramine and cheese.

Lancet II, 587.

REISER, R. F. und K. F. WEISS (1969):

Production of staphylococcal enterotoxins A, B and C in various media.

Appl. Microbiol. 18, 1041 - 1043.

REUTER, G. (1972):

Zur Systematik hygienisch und technologisch wichtiger Bakterien in der
Milchwirtschaft.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 32, 183 - 190.

DERSELBE (1978):

Enterokokken in Lebensmitteln - Nachweis und Bedeutung.

Vortrag gehalten auf der Fortbildungsveranstaltung über Lebensmittelmikro-
biologie am Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen
Ursprungs.

Universität München, 18. - 20.10.1978.

RICE, S. L., R. R. EITENMILLER und P. E. KOEHLER (1976):

Biologically active amines in food: A review.

J. Milk Food Technol. 39, 353 - 358.

RITTER, W. (1968):

Eigenschaften der Käse, IV. Chemische Vorgänge bei der Käsereifung.

in: SCHORMÜLLER, J. (Hrsg.), Handbuch der Lebensmittelchemie,

III./1. Tierische Lebensmittel Milch, Butter, Käse, p. 688 - 750.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

DERSELBE (1976):

Zur Frage der biochemischen Ursache der Nachgärung des Emmentalerkäses.

Eine Anregung zu weiteren Untersuchungen.

Deutsche Molkerei-Zeitung 97, 680 - 684 und 1635 - 1637.

RITZERFELD, W. (1971):

Was sind Staphylokokken?

alimenta 10, 5 - 12.

ROUGHLEY, R. J. und R. W. McLEOD (1961):

Longevity of Staphylococcus aureus in Australian Cheddar cheese.

Aust. J. Dairy Technol. 16, 110 - 112.

zit. nach: Dairy Sci. Abstr. 23, 494.

SCHEUSNER, D. L., F. F. BUSTA und M. L. SPECK (1971):

Inhibition of injured Escherichia coli by several selective agents.

Appl. Microbiol. 21, 46 - 49.

SCHEUSNER, D. L., L. L. HOOD und L. G. HARMON (1973):

Effect of temperature and pH on growth and enterotoxin production by Staphylococcus aureus.

J. Milk Food Technol. 36, 249 - 252.

SCHULZ, M. E. und E. VOSS (1965):

Das große Molkereilexikon. Milchwirtschaft von A - Z in zwei Bänden.

Volkswirtschaftlicher Verlag, Kempten/Allgäu.

SHANNON, E. L., G. W. REINBOLD und W. S. CLARK Jr. (1970):

Heat resistance of enterococci.

J. Milk Food Technol. 33, 193 - 196.

SHARPE, M. E., B. G. FEWINS, B. REITER und W. A. CUTHBERT (1965):

A survey of the incidence of coagulase-positive staphylococci in market milk and cheese in England and Wales.

J. Dairy Res. 32, 187 - 192.

SHATTOCK, P. M. F. (1962):

Enterococci.

in: Chemical and biological hazards in food, p. 303 - 319.

Iowa State University Press, Ames, Iowa.

zit. nach: HESS, E. (1972).

SHEHATA, T. E. und E. B. COLLINS (1971):

Isolation and identification of psychrophilic species of *Bacillus* from milk.

Appl. Microbiol. 21, 466 - 469.

SIEWERT, R. (1979):

Zur Mikrobiologie von Edamer und Gouda.

Milchforschung - Milchpraxis 21, 83 - 84.

SIMONART, P. und R. POFTE (1970):

Die Entwicklung der Bakterienflora in der Randzone und im Zentrum von Gouda Käse.

XVIII. Int. Milchwirt. Congr. Kurzmitteilungen 1D, p. 364.

Sydney, Australien.

SINELL, H.-J. und I. MENTZ (1971):

Enterotoxinbildende Staphylokokken in Käseproben.

alimenta-Sonderausgabe 1971, 22 - 25.

SINGH, R. S. und B. RANGANATHAN (1974):

Occurrence of enteropathogenic *Escherichia coli* serotypes in milk and milk products.

Milchwissenschaft 29, 529 - 532.

DIESELBEN (1980):

Heat resistance of *Escherichia coli* in cow and buffalo milk.

J. Food Protec. 43, 376 - 380.

SKELTON, W. R. und L. G. HARMON (1964):

Growth rate of coliform organisms in Cottage cheese and reconstituted nonfat dry milk.

J. Milk Food Technol. 27, 197 - 201.

SOMM, H. (1970):

Beitrag zur Vermehrungsmöglichkeit Koagulase-positiver Staphylokokken in Weichkäse vom Typus des Camembert.

alimenta 9, 153 - 155.

SPECK, M. L. (1972):

Control of food-borne pathogens by starter cultures.

J. Dairy Sci. 55, 1019 - 1022.

STADHOUDERS, J. (1975):

Microbes in milk and dairy products. An ecological approach.

Neth. Milk Dairy J. 29, 104 - 126.

STADHOUDERS, J., G. HUP und F. HASSING (1982):

The conceptions index and indicator organisms discussed on the basis of spray-dried milk powder.

Neth. Milk Dairy J. 36, 231 - 260.

STEFFEN, C., H. GLÄTTLI und B. NICK (1979):

Vergleichende Untersuchungen von Käsen mit und ohne Nachgärung.

III. Bakteriologische und enzymatische Untersuchungen.

Schweiz. Milchw. Forschung 8, 19 - 26.

STEINBÖCK, F. (1980):

Information zum Nitratproblem.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 63, 93 - 94.

STENZEL, W., H. BÜRGER und W. MANNHEIM (1972):

Zur Systematik und Differentialdiagnostik der Klebsiella-Gruppe mit besonderer Berücksichtigung der sogenannten Oxytocum-Typen.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 219, 193 - 203.

STOKES, J. L. und M. L. REDMOND (1966):

Quantitative ecology of psychrophilic microorganisms.

Appl. Microbiol. 14, 74 - 78.

TAKACS, J., I. LENDVAI und A. ABD-EL-BAKEY (1979):

Comperative study for coliform-count on solid and fluid media.

Arch. Lebensmittelhyg. 30, 41 - 43.

TAKAHASHI, I. und C. K. JOHNS (1959):

Staphylococcus aureus in Cheddar cheese.

J. Dairy Sci. 42, 1032 - 1037.

TATINI, S. R., J. J. JEZESKI, H. A. MORRIS, J. C. OLSON, Jr. und E. P. CASMAN (1971):

Production of staphylococcal enterotoxin A in Cheddar and Colby cheese.

J. Dairy Sci. 54, 815 - 825.

TATINI, S. R. (1973):

Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins.

J. Milk Food Technol. 36, 559 - 563.

TATINI, S. R., W. D. WESALA, J. J. JEZESKI und H. A. MORRIS (1973):

Production of staphylococcal enterotoxin A in Blue, Brick, Mozzarella, and Swiss cheese.

J. Dairy Sci. 56, 429 - 435.

TERPLAN, G. und K.-J. ZAADHOF (1978):

Nachweisverfahren für *S. aureus* in Lebensmitteln.

Arch. Lebensmittelhyg. 29, 132 - 135.

TERRANOVA, W. und P. A. BLAKE (1978):

Bacillus cereus food poisoning.

New England J. Med. 298, 143 - 144.

TESONE, S. und F. QUEVEDO (1978):

Contrôle microbiologique du fromage. I. Fromage à pâte molle: "le Cuartirolo".

Le Lait 58, 43 - 56.

THATCHER, F. S. und D. ROSS (1960):

Multiplication of staphylococci during cheese making.

The influence of milk storage temperatures and of antibiotics.

Can. J. publ. Hlth. 51, 226 - 234.

THOMAS, N. und V. K. N. NAMBU DRIPAD (1974):

Bildung einer extra-zellulären thermostabilen DNase und eines Enterotoxins durch Enterokokken.

XIX. Int. Milchwirt. Kongr. Kurzmitteilungen 1D. p. 591 - 592.

Neu Dehli, Indien.

THOMAS, S. B. und B. THOMAS (1973):

Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulk-collected raw milk. Part. II.

Dairy Ind. 38, 61 - 64, 66, 69, 70.

THOMPSON, T. L. und E. H. MARTH (1974):

Changes in the microflora of Parmesan cheese during its ripening.

69th Annual Meeting of the American Dairy Sci. Assoc.

J. Dairy Sci. 57, 580.

TOLLE, A., W. HEESCHEN, J. REICHMUTH und H. KIND (1971):

Trinkmilch in der Bundesrepublik Deutschland: Eine Untersuchung zum bakteriologischen, biochemischen und rückstandsanalytischen Status. Kieler Milchwirtsch. Forschungsberichte 23, 339 - 456.

TOLLE, A. und W. G. WHITTLESTONE (1976):

Grundlagen der Hygiene der Milchgewinnung. Kieler Milchwirtsch. Forschungsberichte 28, 81 - 228.

TOLLE, A. (1979):

Bacterial association and metabolic activity in milk and dairy products. Arch. Lebensmittelhyg. 30, 84 - 87.

TOLLE, A., I. OTTE und G. SUHREN (1981):

Zur Dynamik der produktionsspezifischen Keimflora und von coliformen Keimen/ E. coli während des Herstellungsprozesses von Camembertkäse. Milchwissenschaft 36, 5 - 9.

TROLLER, J. A. (1980):

Influence of water activity on microorganisms in foods. Food Technol. 34 (5), 76 - 82.

TUCKEY, S. L., M. E. STILES, Z. J. ORDAL und L. D. WITTER (1964):

Relation of cheese-making operations to survival and growth of Staphylococcus aureus in different varieties of cheese. J. Dairy Sci. 47, 604 - 611.

TZANNETIS, S. E. und J. PAPAVALASSIOU (1975):

Survival of food poisoning bacteria in cheese. alimenta 14, 87 - 92.

TZANNETIS, S. E., J. PAPAVALASSIOU und N. KONIDARIS (1982):

The productivity of selective media for Lancefield Group D streptococci after damage due to heat and cold. Arch. Lebensmittelhyg. 33, 156 - 160.

UNTERMANN, F. (1974):

Erreger bakterieller Lebensmittelintoxikationen in Milch und Milchprodukten. Wien. Tierärztlich. Mschr. 61, 37 - 44.

VAN DOORNE, H., R. M. BAIRD, D. T. HENDRIKSZ, D. M. VAN DER KREEK und H. P. PAUWELS (1981):

Liquid modification of Baird-Parker's medium for the selective enrichment of Staphylococcus aureus.

Antonie van Leeuwenhoek 47, 267 - 278.

VAN SCHOUWENBURG - VAN FOEKEN, A. W. J., J. STADHOUDERS und
W. W. WITSENBURG (1979):

The number of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* reached in Gouda cheese
made under normal acidification conditions and the amount of enterotoxin
produced.

Neth. Milk Dairy J. 33, 49 - 59.

WAES, G. (1973):

D streptococci on the hands and clothing of the milker.

Neth. Milk Dairy J. 27, 347 - 351.

WALKER, G. C., L. G. HARMON und C. M. STINE (1961):

Staphylococci in Colby cheese.

J. Dairy Sci. 44, 1272 - 1282.

WARSECK, M., B. RAY und M. L. SPECK (1973):

Repair and enumeration of injured coliforms in frozen foods.

Appl. Microbiol. 26, 919 - 924.

WEBER, J. C. P. (1963):

Tranylcypromine and cheese.

Lancet II, 587.

WILLIS, H., B. E. LANGLOIS, J. O'LEARY und C. L. HICKS (1982):

Chemical and microbial changes during the manufacture and aging of
Bonbel and Bonbino cheeses.

Milchwissenschaft 27, 711 - 715.

WINTERER, H. (1972):

Medien und Nachweismethoden für Clostridien.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 32, 207 - 212.

DERSELBE (1976):

Das Verhalten der coliformen Keime in Käse.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 49, 269 - 272.

DERSELBE (1980):

Die Bedeutung des Salpeters für die Schnittkäseerei.

Milchw. Ber. Wolfp. Roth. 63, 95 - 100.

WOMACK, A. M. (1963):

Tranylcypromine.

Lancet II, 463.

YALE, M. W. (1943):

Significance of the coliform group of bacteria in American Cheddar cheese.
J. Dairy Sci. 26, 766.

YANAI, Y., B. ROSEN, A. PINSKY und D. SKLAN (1976):

Microbiology of Israeli pickled cheese.

J. Milk Food Technol. 39, 4 - 6.

ZEHREN, V. L. und V. F. ZEHREN (1968):

Relation of acid development during cheesemaking to development
of staphylococcal enterotoxin A.

J. Dairy Sci. 51, 645 - 649.

ZOTTOLA, E. A., J. J. JEZESKI und A.N. AL-DULAIMI (1969):

Effect of short-time subpasteurisation treatment on the destruction
of *Staphylococcus aureus* in milk for cheese manufacture.

J. Dairy Sci. 52, 1707 - 1714.

Abschließend möchte ich mich bei Herrn Oberfeldveterinär Dr. Ahrens für die Überlassung des Themas sowie für die Schaffung bester Arbeitsbedingungen zur Durchführung des experimentellen Teils der Arbeit bedanken.

Bei Prof. Dr. G. Terplan bedanke ich mich für die Betreuung und seine Anregungen.

Ganz besonders danke ich Herrn Dr. H. Becker für seine stets geduldige und hilfreiche Beratung.

LEBENS LAUF

Am 5. Juni 1956 wurde ich, Michael V i k t o r, als Sohn des Tierarztes Manfred Viktor und seiner Frau Rita, geb. Fontana, in Trostberg, Kreis Traunstein geboren.

Nach Besuch der Volksschule in Assling bestand ich am Gymnasium Grafing, Kreis Ebersberg, im Juni 1975 die Reifeprüfung.

Im Oktober 1975 immatrikulierte ich mich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München für den Studiengang Tiermedizin. Im Dezember 1980 beendete ich das Studium der Tiermedizin mit dem Staatsexamen. Im Februar 1981 erhielt ich die Approbation als Tierarzt.

Vom April 1981 bis Februar 1982 leistete ich meinen Wehrdienst ab.

Seit März 1982 arbeite ich als Assistent in der Großtierpraxis.

